

THÈSE

présentée devant

L'UNIVERSITÉ DE NANCY I

pour obtenir le titre de

DOCTEUR-INGÉNIEUR

par

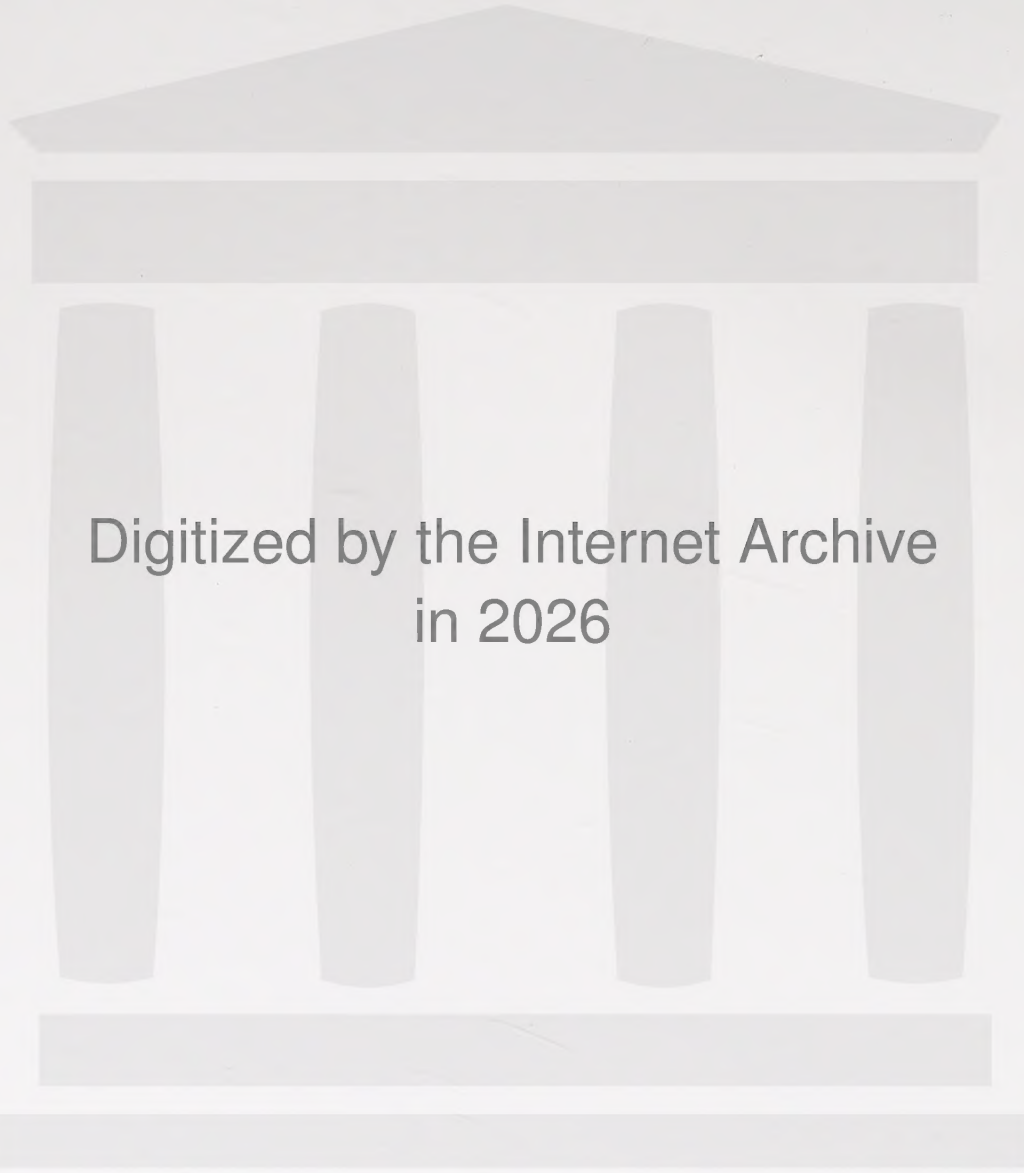
SEFIK TÜRK

Sujet :

**Etude Biochimique de la Coagulation
Acide du Lait Concentré**

Soutenue le 5 Juillet 1972 devant la Commission d'Examen

MM. ALAIS C.	Président
GAY R.	} Examinateurs
HUTIN G.	
TARODO de la FUENTE	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551908_0019

T H E S E

présentée devant

L'Université de Nancy I

pour obtenir

Le titre de Docteur-Ingénieur

par

ŞEFİK TURK

Sujet : ETUDE BIOCHIMIQUE DE LA COAGULATION
ACIDE DU LAIT CONCENTRE

Soutenue le 5 Juillet 1972, devant la Commission d'Examen.

MM. ALAIS C.

Président

GAY R.

)

HUTIN G.

)

Examineurs

TARODO de la FUENTE B.)

ETUDE BIOCHIMIQUE DE LA COAGULATION ACIDE

DU LAIT CONCENTRE

A V A N T - P R O P O S

Avant d'exposer notre travail, qu'il nous soit permis d'adresser à M. Charles ALAIS, professeur de Biochimie Appliquée à l'Université de Nancy I et chef de notre groupe de recherche, qui nous a accueilli en 1969 dans son service de recherche à l'Ecole Supérieure de Laiterie qui nous a conseillé dans nos travaux et qui nous a fait l'honneur d'accepter la Présidence de notre Jury, l'expression de notre gratitude et de notre respect.

Nos remerciements vont également à M. le Professeur GAY qui a bien voulu accepter de faire partie de notre Jury et à M. HUTIN G. dont la grande connaissance des problèmes que nous avons abordés et l'esprit de collaboration, nous ont apporté une aide très précieuse.

Nous tenons à présenter nos remerciements, à M. TARODO de la FUENTE B. qui a dirigé ce travail de la façon la plus aimable et la plus efficace, et nous a toujours conseillé quelques soient les circonstances. Nous l'assurons de notre amitié et de notre plus sincères reconnaissance.

Nous ne pouvons clore ces remerciements sans exprimer nos sentiments reconnaissants à M. LINDEN G. pour l'appui qu'il nous a apporté, à toute l'équipe de recherche de "Biochimie Appliquée" dirigée par M. le Professeur ALAIS, à toute l'équipe de recherche des Etablissements HUTIN dont nous avons apprécié l'étroite collaboration?

Enfin, nous exprimons notre reconnaissance à toutes celles et à tous ceux de l'Ecole Supérieure de Laiterie et de l'I.U.T. de Biologie Appliquée, où nous avons faits nos travaux de recherche qui, à des titres divers, ont contribué à nos côtés à la présentation de ce travail, et en particulier à Mademoiselle MASSON et à Madame ADAM.

P L A N

1. Introduction.

1.1. L'utilisation du lait concentré en fromagerie.

1.2. Principes des procédés SH.

2. Matériel et méthodes.

2.1. Préparation des caillés.

2.2. Méthodes de dosage et d'identification.

2.2.1. Dosage de l'azote.

2.2.2. Dosages des minéraux (Ca, Mg, Na, K) par spectrophotométrie d'absorption atomique.

2.2.3. Ultrafiltration.

2.2.4. Dosage du phosphore par méthode chimique.

2.2.5. Dosage du calcium ionique.

2.2.6. Ultracentrifugation.

2.2.7. Electrophorèse sur gel amidon.

2.2.8. Mesure de la fermeté au pénétromètre.

3. Résultats.

3.1. Mise au point du dosage du phosphore dans le lait par spectrophotométrie d'absorption atomique.

3.2. Effets de la concentration et des variations du pH sur la distribution des minéraux.

3.2.1. Condition de l'expérience.

3.2.2. Distribution des minéraux dans le lait normal et concentré.

3.2.3. Solubilisation des minéraux en fonction du pH.

3.3. Influence du procédé de maturation sur les propriétés des caillés acides.

3.3.1. Plan de l'expérimentation.

3.3.2. Compositions chimiques des laits utilisés.

- 3.3.3. Influence de l'addition de calcium sur la composition du lait concentré et du sédiment.
- 3.3.4. Conséquences technologiques du type de maturation et de la conservation du lait concentré maturé.

- 3.3.4.1. Effet de l'addition de calcium et de la température du lait au moment de la coagulation.

- 3.3.4.2. Effet du temps de stockage à une température donnée sur la fabrication.

- 3.4. Effets de l'enrichissement, en diverses substances solubles du lait concentré sur la composition et les propriétés des caillés acides.

- 3.4.1. Effets de l'enrichissement en calcium du lait concentré.

- 3.4.1.1. Maturation biologique.

- 3.4.1.2. Acidification chimique.

- 3.4.2. Effets de l'enrichissement en lactose du lait concentré.

- 3.4.2.1. Maturation biologique.

- 3.4.2.2. Acidification chimique.

- 3.4.3. Effets de l'enrichissement en protéines du sérum du lait concentré.

- 3.4.3.1. Maturation biologique.

- 3.4.3.2. Acidification chimique.

- 3.4.4. Comparaison des effets des différentes additions.

- 3.4.5. Influence de l'acidification mixte sur la composition et la fermeté des pâtes.

- 3.5. Etude électrophorétique des laits et des caillés.

4. Discussion.

4.1. Dosage du phosphore.

4.2. La distribution des minéraux dans le lait concentré.

4.3. Les différents type de maturation.

4.4. Influence des constituants solubles.

4.5. Etudes électrophorétiques.

5. Résumé.

6. Bibliographie.

1 - I N T R O D U C T I O N

1.1 - L'UTILISATION DU LAIT CONCENTRE EN FROMAGERIE.

Le lait dont la valeur alimentaire est indiscutable subit de nombreux traitements industriels qui varient selon sa qualité et sa destination. Parmi ces processus technologiques, il en est un de très commun, utilisé dans de nombreuses industries alimentaires, et qui conduit dans le cas du lait, à un produit particulier doué de propriétés très intéressantes en fromagerie : c'est la concentration par évaporation d'eau.

Sur le plan pratique, l'utilisation du lait concentré en fromagerie a pour conséquences les avantages suivants :

- 1) Nouvel aspect du ramassage,
- 2) Fabrication accélérée en continu,
- 3) Augmentation du rendement "maigre",
- 4) Réduction des pertes de matière grasse,
- 5) Réduction du temps "égouttage",
- 6) Automatisation,
- 7) Diminution de la pollution par les effluents.

Les procédés Hutin-Stenne sont une utilisation directe de ces différentes propriétés et permettent en outre, l'automatisation très poussée des fabrications fromagères classiques.

A la base de la plupart des procédés de fabrication de fromages en continu se trouve une découverte effectuée par FERRIDGE en Grande Bretagne en 1942 concernant l'action à basse température de la présure sur le lait. Ce chercheur a en effet établi que la phase primaire de l'action de la présure, (constituée par l'attaque enzymatique spécifique de la caséine K (WAUGH et VON WIPPEL 1956) , pouvait être dissociée de la phase de coagulation proprement dite. Ils ont mis en évidence que l'action enzymatique se développait à une vitesse ralentie mais appréciable à basse température

(au dessous de 5 - 7° C) alors que la coagulation elle-même du fait de son coefficient de température très élevé, ne se produisait plus qu'à une vitesse extrêmement lente, rendant le phénomène invisible pendant de nombreuses heures. Au contraire la coagulation d'un tel lait emprésuré à froid peut être obtenue en quelques secondes par un réchauffement rapide du liquide aux environs de 30-35° C.

Deux procédés en continu sont basés sur ce phénomène fondamental, le procédé anglais de BERRIDGE et le procédé hollandais de NIZO. Ils utilisent comme matière première le lait normal emprésuré à 4° C, stocké plusieurs heures à basse température, afin que l'action enzymatique de la présure puisse s'accomplir, et finalement réchauffé pour la coagulation.

Depuis quelques années, on assiste à une multiplication des demandes de brevets en cette matière ; on peut citer, d'après TSCHIERET (1970) : Station Laitière d'HILLEROED (Danemark), Sté ALFA-LAVAL (Suède), HARPER (U.S.A.), FOSTER (U.S.A.), Sté BEL (France), SCHULTZ (R.F.A.), Sté ALBHORN (R.F.A.), IPM (Pologne), LANKFORD (U.S.A.), ERNSTROM (U.S.A.), etc.....

Les procédés Hutin-Stenne font appel à l'emprésurage à froid comme les procédés BERRIDGE et NIZO ; mais ils en diffèrent fondamentalement par l'utilisation du lait concentré comme matière première. Leur principe fait donc intervenir toutes les modifications de nature physico-chimique que subit le lait au cours de sa concentration (ALAIS, 1965), (ALAIS et STENNE, 1965).

Le plus évolué des procédés Hutin-Stenne (désigné par le sigle SH - 13) peut s'appliquer à la coagulation du lait acidifié pour l'obtention des "Pâtes Fraîches". Ces formes lactiques du fromage, à faible teneur en extrait sec (10 à 20 %) connaissent une grande faveur des consommateurs à l'époque actuelle. Les procédés traditionnels de fabrication des pâtes fraîches utilisent une dose de présure de l'ordre de 1 à 5 ml/100 l. Le procédé SH - 13 appliqué à ce type de fabrication n'utilise pas du tout de présure ; il permet ainsi de faire l'économie d'une denrée qui se raréfie.

Dans ce présent travail, nous nous proposons d'étudier l'utilisation du lait concentré dans la production de caillés acides par le système Hutin-Stenne. Nous avons essayé différents types de maturation, en tenant compte des récentes études de ERNSTROM (1965) sur l'acidification du lait par addition d'un acide à la place de la fermentation lactique. C'est un procédé d'obtention de caillés ("Direct acid curds ") qui se répand en Amérique du Nord pour le fromage de Cottage.

Les travaux ultérieurs de FOX et ERNSTROM (1969) sur la stabilité de la caséine à basse température ont montré que la caséine ne précipite pas à basse température en présence d'une quantité minimum de calcium et que le refroidissement du lait avant l'acidification ralentissait et limitait la solubilisation du calcium et conduisait après réchauffage à des pâtes de plus grande fermeté. Le problème de l'état du calcium est aussi posé et nous avons cherché à l'approfondir.

Dans une première partie, nous avons étudié la solubilisation des substances minérales du lait concentré ; mais nous avons dû tout d'abord résoudre un problème analytique. Pour doser les métaux, nous disposons d'une méthode moderne et rapide : la spectrophométrie d'absorption atomique. Pour doser le phosphore, qui est pour nous un élément intéressant, nous disposions jusque là de méthodes chimiques trop longues pour permettre de grandes séries. C'est pourquoi, nous avons mis au point une méthode de dosage du phosphore dans les milieux biologiques par Spectrophotométrie d'absorption atomique.

Dans la deuxième partie, nous avons étudié les effets de la température de coagulation, de la durée et de la température de conservation du lait concentré sur la composition et la fermeté des caillés acides obtenues.

Dans la troisième partie, nous avons étudié l'influence de plusieurs éléments constitutifs du lait concentré sur la fermeté et la composition des mêmes produits, avec différents modes de maturation.

1.2 - PRINCIPES DES PROCÉDES SH.

Le principe des procédés Hutin-Stenne de fabrication en continu des caillés présure, repose sur le grand écart entre les vitesses des phases primaires et secondaires de l'action de cet enzyme, et sur l'utilisation de lait concentré. La concentration du lait entraîne diverses modifications physico-chimiques : déplacement de l'équilibre salin de la phase soluble vers la phase insoluble, chute du pH de l'ordre 0,06 à 0,2 unités (ALAIS et TARODO 1970), modification de l'hydratation des protéines (TARODO et COLL 1971) et diminution de la stabilité à la chaleur. L'augmentation de tous les constituants par unité de volume produit parallèlement un rapprochement des micelles conduisant à un accroissement de la taille des agrégats micellaires.

Il a été mis en évidence que la taille des particules de phospho caséinate joue un grand rôle sur l'aptitude à la coagulation des laits individuels (HOSTETTLER et IMHOF, 1952), (MOCQUOT et COLL, 1954). Plus les particules sont grandes et plus la coagulation est rapide.

Après la concentration (2,4 fois environ dans les essais que nous avons réalisés) on obtient des agrégats de la taille 50 à 100 fois plus grande que celle de la particule initiale de phospho caséinate (SCHMIDT 1965). Ces agrégats de phospho caséinate favorisent, lors de la coagulation du lait, la formation d'une structure réticulée, retenant en particulier aussi bien de la matière grasse, que de très fines particules de protéines, des sels et du lactose et provoquant par là, une augmentation substantielle du rendement.

Il a été montré, en outre, que la concentration du lait entier provoque une augmentation importante de la rétention de la matière grasse dans le caillé présure, par suite d'une association des micelles de caséine avec les globules gras (MABBITT et CHEESEMAN, 1967).

Des études précises, sur des fabrications semi-industrielles ont mis en évidence des augmentations de rendement "maigre"

comprises entre 7 et 12 % selon les types de fromages. D'après ARDEBILI et COLL (1964), elle est essentiellement due à une meilleure rétention des protéines du lait dans le fromage MAUBOIS et COLL (1965), trouve que l'augmentation du rendement maigre avait deux origines ; d'une part l'apport de substance sèche résultant de la présence dans le fromage d'un lactosérum plus concentré et, d'autre part, une rétention plus grande des sels phosphocalciques dans le coagulum de lait concentré. Selon TOURNEUR et COLL (1967), l'augmentation de rendement aurait deux origines : une plus grande rétention des constituants du sérum et un degré de minéralisation des pâtes plus élevé. En dehors de l'amélioration du rendement, on peut ajouter à l'actif des procédés SH. Constance des fromages - standardisation, la concentration conduit à un lait de composition connue et parfaitement homogène qui permet des fabrications à partir d'une matière première constante en éliminant les différences de composition. Au point de vue qualité bactériologique, lorsqu'un lait titrant 18° D d'acidité est concentré de 12 à 36 % d'extrait sec total, l'acidité passe à 55° D environ. L'acidité du concentré est donc dès le début du stockage à une valeur telle que le développement de bactéries indésirables est considérablement sinon totalement inhibé. Pourtant, les ferments lactiques qui sont mis dans le concentré froid augmentent encore à cette acidité.

Le procédé SH fait appel à une mécanisation et à une automatisation assez développées et permet de réduire considérablement la main-d'oeuvre en donnant une sécurité dans la technologie. Les systèmes classiques de moulage de transfert des moules et d'égouttage qui se trouvent en aval, restent valables. Mais ils demanderaient à être perfectionnés pour que l'ensemble de la fabrication fasse un tout homogène.

Plusieurs procédés ont été mis au point pour l'utilisation du lait concentré. Dans le plus ancien, le procédé SH 11, le concentré estensemencé avec des ferments lactiques. Après quelques heures de stockage le lait est dilué au moyen d'eau, de façon que l'extrait sec total soit légèrement supérieur, à l'extrait sec total du lait normal. Le lait ainsi reconstitué est ensuite réchauffé à la température classique d'emprésurage, qui a lieu comme dans la fabrication classique.

Le procédé SH 12 est relatif à la fabrication en semi-continu de caillés de pâtes molles, c'est-à-dire de fromages à égouttage spontané et de type mixte (présure et acide). On part d'un lait concentré pré emprésuré à froid (10° C environ). Par dilution au moyen d'eau chaude, on provoque une coagulation rapide, mais non instantanée.

Le procédé SH 13 (Breveté S.E.F.F.A.C., 1964) est le plus avancé des procédés Hutin (figure 1). Il concerne la fabrication en continu du caillé, de fromages de toutes catégories et aussi de caséine. Cependant, il se différencie des précédents notamment par le fait que, d'une part l'emprésurage et le pH du lait concentré sont réglés pour obtenir une coagulation instantanée lors de la dilution à l'eau chaude et d'autre part, toutes les opérations de formation et de traitement du grain sont réalisées en continu dans une même machine spéciale appelée "Paracurd".

Jusqu'au stade du refroidissement du concentré avec ajustement automatique du pH à la valeur désirée pour le type de fromage considéré, les étapes du procédé SH 13 sont communes à celles des précédentes. L'emprésurage à froid se fait pendant un temps relativement long (30 à 40 minutes) de façon à ce que la coagulation du lait soit instantanée au moment de la dilution par l'eau à une température et à un volume appropriés. Le lait concentré et emprésuré est envoyé dans la Paracurd au moyen d'une pompe doseuse à un débit réglable mais rigoureusement constant. Il arrive dans la partie supérieure de la machine où, grâce à un système d'injection spécial, il est mis en contact avec de l'eau à une température et un volume convenables. (figure 2). Il se produit alors une coagulation instantanée du lait, mais à l'inverse des procédés classiques, dans lesquels le caillé est formé puis découpé et brassé pour aboutir à des grains, le grain de caillé obtenu, dans la Paracurd, le résultat d'une agglomération de fines particules de caillé qui, immédiatement, et dans cet état de finesse, sont soumis à une synérèse, en passant dans un système profilé d'agglomération. Le durcissement du grain est réalisé à l'issue de cette dernière opération.

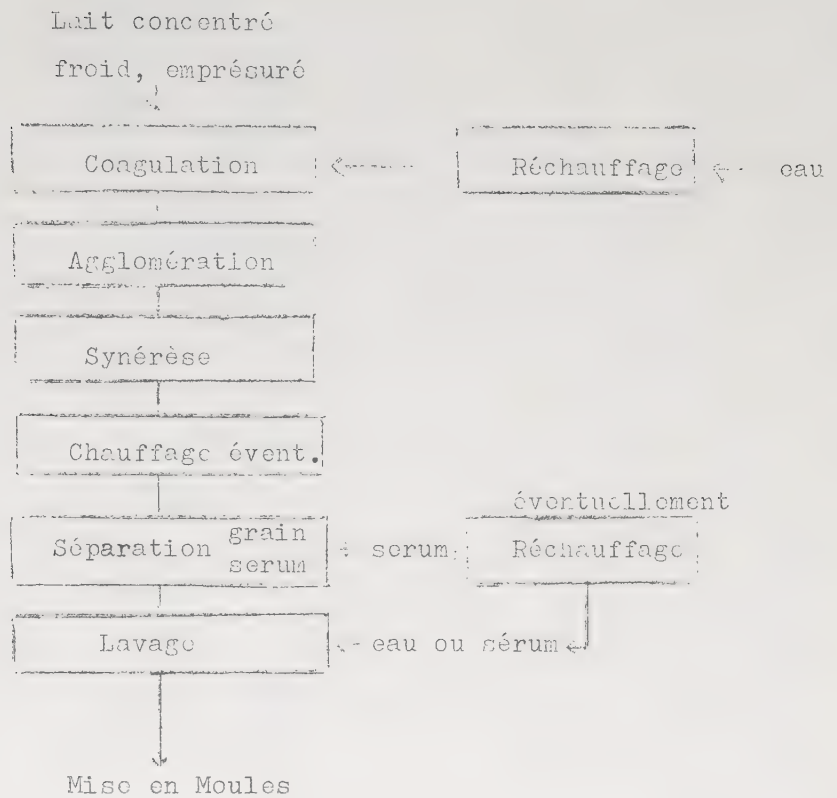


FIGURE 1 : Diagramme du procédé SH 13 (PARACURD)

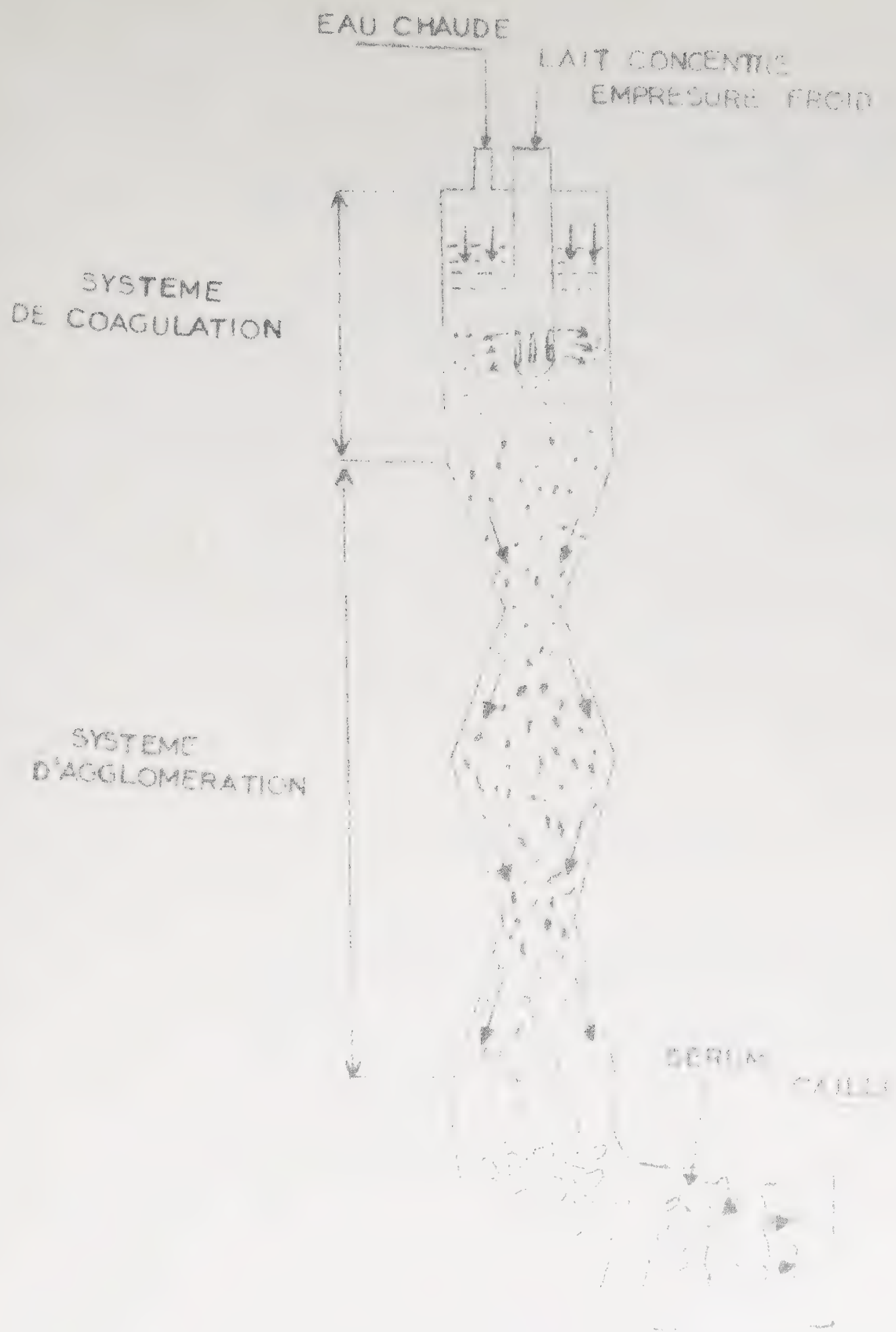


FIGURE 2 : Tête de coagulation et système d'agglomération de la "Farineuse".

(document Fils Hutin)

Cette souplesse est renforcée par la faculté qu'à l'opérateur de faire varier la température de coagulation en agissant sur celle de l'eau, variations de 0,5° C ou 1° C apportant des degrés de durcissement sensiblement différents.

Le grain, véhiculé par le sérum en formation, continue sa progression dans l'appareil, sous l'action des pompes d'alimentation, le système étant sous légère pression. Il passe alors dans une section de la synérèse dans laquelle peut être réalisé, pour le fromage à pâte cuite, un réchauffage du produit.

Le mélange grain et sérum arrive alors au séparateur constitué par un tamis rotatif horizontal, dont la vitesse de rotation est variable. Il permet une séparation pratiquement totale du grain et du sérum. Le grain tombe ensuite dans la dernière partie de la machine où il est soit lavé en continu au moyen d'eau à température définie, soit repris par du sérum extrait précédemment qui a été préalablement chauffé (cas du Cheddar).

A la sortie de la machine, le caillé est mis directement, et toujours en continu, dans les moules.

La machine peut produire pratiquement tous les types de fromages en particulier des pâtes fraîches, à partir de lait acidifié à un pH défini, sans présure. C'est d'après cette technique qu'on a exécuté nos expériences de coagulation acide du lait concentré.

2 - MATERIEL ET METHODES

2.1 - PREPARATION DES CAILLES.

On a utilisé du lait écrémé de grand mélange, pasteurisé une première fois à 80° C pendant 90 secondes avant écrémage. A cause d'impératifs technologiques, ce lait est stocké de 1 h à 3 h à 4 - 5° C ; il sera de nouveau pasteurisé à 72° C pendant 30 secondes avant concentration.

La composition moyenne des laits utilisés est donnée dans le tableau 1.

Pour la maturation biologique, on a utilisé des ferments lactiques "Flora Danica" à raison de 14 g de ferments pour 100 g de lait concentré à 220 g d'extrait sec. Pour les essais des différents additionnés constituants non caséiniques du lait concentré ; 10 g de ferments pour 100 g de lait concentré et 2 g pour 100 g de lait écrémé normal. La maturation se poursuit pendant 15 à 23 h à 22° C pour différents essais.

Au cours de l'acidification chimique, le lait concentré,ensemencé en ferments lactiques comme précédemment, est immédiatement acidifié à pH 4,7, à la température de 5° C par addition d'acide chlorhydrique à raison de 12,5 kg d'acide normal pour 100 kg de lait.

Nous avons réalisé également des essais d'acidification mixte en abaissant à 4,7, par addition d'acide chlorhydrique, le pH d'un lait concentré, déjà mûré par fermentation lactique (pH 5,2).

L'addition de calcium, est de 4,5 m moles par kg de lait concentré pour les essais du chapitre 3.4.

La conservation du lait écrémé mûré a été réalisé à trois températures : 2° C, 12° C et 22° C pendant 2 h ou 5 h après acidification à pH 4,8 et avant coagulation.

Différentes additions ont été faites avant les maturations : le chlorure de calcium à raison de 25, 50, 75 et 100 m g de calcium par kg de lait concentré, le lactose à raison de 25, 50, 75 et 100 g de lactose par kg de lait concentré.

TABEAU 1 - COMPOSITION MOYENNE DES LAITS

:	:	:	:
:	:	Lait écrémé normal	Lait écrémé concentré
:	:	:	(2,42)
:	:	:	:
:	pH	6,56	6,43
:	:	:	:
:	Es %	8,95	21,9
:	:	:	:
:	Matières azotées g/kg	33,7	81,1
:	:	:	:
:	Lactose g/kg	46,5	112
:	:	:	:
:	(F)	:	2,42
:	:	:	:
:	Ca total g/kg	1,23	2,98
:	:	:	:
:	Ca soluble g/kg	0,39	0,38
:	:	:	:
:	Eau d'hydratation g/kg	65,3	143
:	:	:	:

.../...

75 g par kg de lait concentré et les protéines du sérum à raison de 40, 80 et 120 g de protéines séchées par kg de lait concentré.

La coagulation est consécutive au réchauffement à 40° C par addition d'eau chaude au lait écrémé concentré maturé, qui se trouve à 22° C, 12° C ou 5° C. La température de l'eau est déterminée en tenant compte de la quantité de chaleur qu'il faut fournir au lait de départ et du volume qu'il faut lui ajouter pour obtenir un mélange à 40° C et à 90 pour 1 000 d'extrait sec.

Pour les essais des différentes additions des constituants ^{expériences} caséiniques du lait, les sont effectuées dans le laboratoire, avec une installation qui permet de reproduire les conditions de temps et la température du procédé de coagulation en continu SM - 13.

La coagulation du lait écrémé normal est effectuée toujours à 40° C par simple chauffage au bain marie.

Les protéines du sérum sont obtenues par chauffage à 80° C et filtration du sérum provenant de la coagulation acide d'un lait concentré (ALAIS 1962). La teneur de ce précipité des protéines du sérum en azote est égale à 12,2 %. (78,7 % des protéines du sérum).

2.2 - METHODES DE DOSAGE ET D'IDENTIFICATION (*)

2.2.1 - Dosage de l'azote

L'azote est dosé par micro-kjeldahl, sur 0,5 g de lait ; digestion avec 3 ml d'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur contenant : 1 g sélénium en poudre, 5 g sulfate ferreux et 32 g sulfate de potassium.

La distillation de l'ammoniac est faite dans l'appareil de Büchi. L'ammoniac est fixé dans le milieu suivant :

Acide borique	5 g
Alcool absolu	50 cc
Solution concentrée d'indicateur coloré	10 cc
H ₂ O	q.s.p.
	500 ml

Solution concentrée d'indicateur colorée.

0,033 % vert de Bromocrésol	)	Dans l'alcool
0,066 % rouge de méthyle	)	absolu
	)	

Le milieu de fixation est préneutralisé par addition de quelques gouttes de soude avant usage de façon à permettre la titration de la totalité de l'ammoniac dégagé. On neutralise l'ammoniac distillé à l'aide d'une solution d'acide sulfurique 0,01 N par une micro-burette automatique (Dosimat) étalonnée au 1/100 ml, jusqu'à virage du vert à la teinte neutre de préneutralisation située entre la coloration verte en milieu basique et rose en milieu acide de l'indicateur.

2.2.2 - Dosage des minéraux (Ca, Mg, Na, K) par spectrophotométrie d'absorption atomique.

.../...

(*) Les méthodes sont décrites avec assez de détail, en tenant compte du fait que cette thèse doit être lue à l'usage.

2.2.2.1 - Principe

Lors de la pulvérisation dans une flamme d'une solution contenant l'élément à doser, les atomes sont excités par l'énergie thermique produite. Cela se traduit par le passage d'un électron d'une sous-couche d'énergie E à une sous couche d'énergie $E + h\nu$ (h étant la constante de PLANCK). Le retour au niveau énergétique initial, E , se traduit par l'émission d'un photon de fréquence ν . C'est cette émission de radiation, caractéristique de l'élément et proportionnelle à sa concentration, que l'on mesure dans la méthode d'émission. Par contre, en photométrie de flamme, par absorption atomique, des atomes sont excités par l'effet de résonnance dû à l'émission de photons par une source qui émet à la fréquence ν . Ces photons sont absorbés et il en résulte une diminution de l'intensité du faisceau sortant de la flamme, diminution qui sera mesurée à l'aide d'un récepteur approprié. (LINDEN, 1971).

2.2.2.2 - Constituants essentiels d'un appareil de spectrophotométrie d'absorption atomique.

L'appareil que nous avons utilisé était une monofaisceau "Jobin Yvon" modèle Delta, figure 3.

Comme source d'énergie, on place une cathode crouse(s) émettant les radiations de l'élément à doser, les radiations sont modulées par le modulateur (MD), le faisceau est rendu convergent par la lentille L1, diaphragmé par D, et porté sur le brûleur Br, qui est pourvu des fentes perpendiculaires à l'axe du faisceau de radiations. Modifié par la traversée de la flamme, le faisceau de radiations devient divergeant à nouveau, converge grâce à la lentille L2 sur la fente d'entrée Fe du sélecteur de radiation, le faisceau divergeant de la fente transporte toutes les radiations émises par le générateur de radiations, par contre le faisceau convergeant sur la fente Fs ne transporte plus que la radiation d'analyse dont le flux énergétique a été diminué par l'absorption atomique dans la flamme. Le monochromateur élimine les radiations autres que la radiation d'analyse que la source de radiation pourrait transmettre. La lentille L3 collecte le faisceau qui sort de la fente Fd et aboutit sur la surface photosensible du photomultiplicateur (P.M).

Le signal électrique qui sort du photomultiplicateur est introduit dans un circuit, à atténuation réglable, accordé en fréquence et en phase avec la modulation du faisceau de radiations émis par la source de radiations s ; le signal sinusoïdal issu de ce circuit est redressé en synchronisme avec cette même modulation (PINTA et COLL 1971).

2.2.2.3 - Lampes à cathode creuse.

Le principe des lampes à cathode creuse dérivé de celui des tubes de GEISSLER, dans lesquels la pression des gaz est du même ordre de grandeur. On sait que, dans les tubes à gaz raréfiés, la cathode reçoit un afflux positif, formé par l'ionisation du gaz qui remplit le tube. Ces ions acquièrent une grande vitesse à proximité de la cathode (espace "obscur" de CROOKS) et peuvent, dans certaines conditions de pression et d'excitation y produire une luminescence observable.

Les atomes ionisés du gaz de remplissage peuvent atteindre une énergie suffisante pour arracher les atomes du métal qui constitue la cathode. Si celle-ci est creuse, l'atmosphère atomique reste confinée à l'intérieur de la cavité et les atomes métalliques y subissent divers états d'excitation (chocs de seconde espèce) en émettant les radiations correspondantes.

Dans nos essais, nous avons utilisés des lampes de types "Lampe à cathode protégée, avec un manchon isolant de verre" (ROUSSELET, 1966) figure 4.

2.2.2.4 - La Gamme étalon.

La gamme étalon est préparée de la façon suivante (tableau 2).



FIGURE 3 : Schéma optique du spectrophotomètre d'absorption atomique monofaisceau "Delta" de JOHN et YVON (d'après JOHN et YVON).

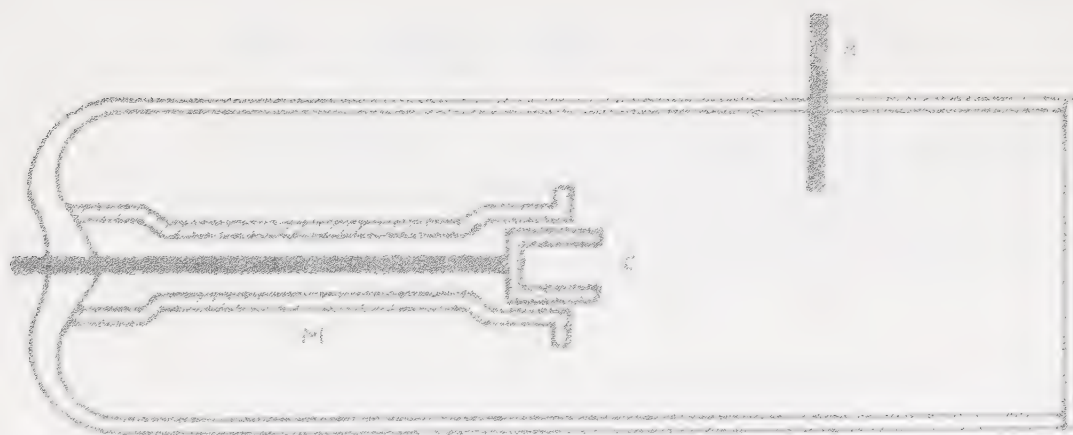


FIGURE 4 : Lampe à cathode protégée.

A : anode, C : cathode, M : manchon isolant de verre

TABLEAU 2 : Préparation de la gamme étalon

:	:	<u>Solution mère</u>	:	<u>Solutions filles</u>	:
:	:	:	:	:	:
:	Ca	: 0,998 g CaCO_3 /200 ml	:	: 2,5, 10, 15 et 20 ppM	:
:	:	:	:	:	:
:	Mg	: 0,405 g Mg SO_4 /200 ml	:	: 0,2, 0,5, 1, 1,5 et 2 ppM	:
:	:	:	:	:	:
:	Na	: 0,102 g NaCl /200 ml	:	: 0,5, 1, 2, 3 et 5 ppM	:
:	:	:	:	:	:
:	K	: 1,78 g K_2SO_4 /200 ml	:	: 2, 4, 10, 16 et 20 ppM	:
:	:	:	:	:	:

Nous avons effectué les analyses après avoir dilué les produits 200 fois et en ajoutant comme tampon spectral 20 ml de chlorure de Lanthane (La_2O_3 118 g, HCl concentré 250 ml, H_2O q.s.p. 1 000 ml.)

Le dosage des minéraux totaux est effectué sur le lait, les sérums et les pâtes ; les minéraux solubles sont déterminés sur les ultrafiltrats obtenus par la technique de TESSIER et ROSE (1958) et sur les ultrafiltrats obtenus par la méthode d'ultrafiltration sur membranes Diaflo.

2.2.3 - Ultrafiltration

Pour séparer les substances solubles, nous avons utilisé les membranes Diaflo qui sont fabriquées dans une matière polymérisée, biologiquement inerte, dense et sélectivement perméable, de structure spongieuse, supportée par un film fin et poreux de polyéthylène.

En cours d'opération, on crée un gradient de pression qui provoque l'ultrafiltration de l'eau, des sels et autres substances à petite molécule capables de traverser la membrane perméable.

... ..

Comme prise d'essai, nous avons utilisé 250 ml du lait, nous avons éliminé chaque fois les 10 premiers ml d'ultrafiltrat pour éviter toute contamination.

2.2.4 - Dosage du phosphore par méthode chimique.

Nous avons utilisé la méthode de FISKE et SUBBAROW modifiée par BAMMAN et COL(1948) qui ont étudié les conditions optimales de formation et de conservation du complexe phosphomolybdique en déterminant la zone adéquate d'acidification ($0,7 \quad 1,3 \text{ N H}_2\text{SO}_4$). Le bleu de molybdène est obtenu avec l'acide 1 - 2 - 4 naphтол sulfonique et le bisulfite de sodium.

Nous avons détruit la matière organique par voie sèche. Pour éviter toutes projections, nous portons les capsules dans une étuve à $100^\circ \text{ C} \pm 2$ pendant 2 h avant de les mettre dans le four à mouffle. Après destruction de la matière organique, nous avons récupéré les cendres avec 1 ml HCl concentré.

L'intervalle couvert par la gamme étalon s'étale de 0,4 à 3 g de phosphore compte tenu des teneurs en phosphore des laits analysés.

Réactifs

- H_2SO_4 ION
- $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ à 2,5 % Molybdate d'ammonium.
- Solution réductrice
0,5 g d'acide 1 amino 2 hydroxynaphtalène sulfonique
- 4 ($\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_4\text{S}$)
- + 195 ml NaHSO_3 à 15 %
- + 5 ml Na_2SO_3 à 20 %
- Solution de phosphore : 0,0439 g de KH_2PO_4 par litre.

Nous avons effectué aussi le dosage du phosphore par la méthode directe que nous avons mis au point et dont nous parlerons dans les résultats.

.....

2.2.5 - Dosage du calcium ionique.

Le dosage est basé sur le changement de couleur d'un indicateur (Murexide ou purpurate de potassium) ajouté en quantité connue à la solution de calcium à doser. La mesure de la coloration permet la détermination de la concentration en ions Ca^{++} du lait par comparaison avec des solutions de titre en calcium ionisé connu.

Rappelons que SCHWARZENBACH et GYSLING (1949) ont montré qu'un sel primaire de l'acide purpurique (Murexide) peut servir d'indicateur pour le calcium. Quand une petite quantité d'ions de calcium est ajoutée à une solution de murexide ayant un pH 7,5, la couleur de la solution passe du **pourpre** au jaune-orange.

L'indicateur : c'est une solution contenant 0,1 g de murexide pour 100 ml, dissoute à chaud (40° C). La solution est filtrée après une nuit de repos à la température ambiante ; l'âge de la solution est compté à partir du moment où la filtration est terminée (SAINCLIVIER 1959).

L'âge de l'indicateur provoque des écarts élevés entre les différentes valeurs de la constante de dissociation au-delà de 24 h, du fait de l'instabilité du colorant. On conseille l'utilisation de l'indicateur pendant les 24 heures qui suivent sa préparation. La composition des solutions étalons est donné dans le tableau 3.

La composition de la solution dite "OSLO"

0,20 M de NaCl	)	
0,45 M de KCl	)	
0,05 M de MgCl_2	)	pour un litre

La solution tampon de pH = 6,49 est obtenue en mélangeant 2 ml de solution ^{de} mono maléate de sodium (0,5803 g d'acide maléique dans 100 ml de NaOH 0,05 N),
et

8 ml de dimaléate de sodium (0,5803 g d'acide maléique dans 100 ml de NaOH 0,1 N).

... ..

TABLEAU 3 : Composition des solutions étalons (d'après SMEETS)

Désignation des solutions étalons	Solution de CaCl ₂		Solution dite "Oslo"	Solution tampon pH 6,49	Eau distillée
	à 0,01 M/l	à 1 M/l			
	volume en ml	volume en ml			
E ₁	0	0	10,00	10,00	q.s.p. 100 ml
Ea ₁	10	0	9,62	10,00	" "
Ea ₂	20	0	9,25	10,00	" "
Ea ₃	30	0	8,86	10,00	" "
Ea ₄	40	0	8,48	10,00	" "
Ea ₅	50	0	8,10	10,00	" "
Ea ₆	60	0	7,72	10,00	" "
Ea ₇	70	0	7,34	10,00	" "
Ea ₈	80	0	6,96	10,00	" "
E ₂	0	20	0	10,00	" "

L'extinction est mesurée à 480 nm. La concentration des ions calcium est ensuite calculée suivant l'équation (SEEKLES et SNEETS, 1954).

$$Ca^{++} = \frac{1}{K' \cdot a} \frac{E_2 - E_1}{E_2 - E_0}$$

2.2.6 - Ultracentrifugation

La mesure de l'eau d'hydratation dans les différents laits et pâtes est réalisée par la méthode de THOMPSON et COLL (1969) avec ultracentrifugation, Spinco L - 2.

Les échantillons sont pesés dans des tubes en nitrate de cellulose. La centrifugation est faite dans un rotor 50 à 29 000 t/mn avec une accélération maximum de 68 000 xg pendant 35 mn à 37° C.

Après centrifugation, on pèse le tube avec le culot (W1), on lyophilise les tubes pendant 24 heures, on pèse le culot sec avec le tube (W2) et on pèse le culot tout seul (W3).

$$\frac{W1 - W2}{W3} = \text{l'eau d'hydratation g/g du culot.}$$

2.2.7 - Electrophorèse sur gel d'amidon

Nous avons utilisé la technique de WAKE et BALDWIN (1961).
Préparation du gel : on prépare le gel 24 à 48 h avant l'électrophorèse. On mélange 55 g d'amidon, 246 ml d'eau distillée et 42 ml de tampon TRIS à pH 8,6. On agite doucement en chauffant légèrement, le chauffage doit être très homogène. Quand le gel devient transparent, on arrête le chauffage, avec une légère agitation, on ajoute 176,5 g d'urée et 0,82 ml de mercaptoéthanol. On dégaze le gel dans une fiole à vide et on le coule.

Pour les dépôts, on utilise de petits morceaux de papier d'Arches, qui ont été imprégnés par l'échantillon et on les place dans le gel.

Pendant la migration, la plaque est reliée aux électrodes par des bandes de papiers d'Arches qui plongent dans le tampon acide borique/soude pH 8,6. L'électrophorèse est poursuivie pendant 18 heures sous une tension d'environ 250 volts, à une température de 4° C. Après la migration, le gel est coupé en trois bandes d'épaisseur égale et coloré par le noir amido concentré saturé pendant 10 minutes.

Réactifs :

a) Tampon TRIS, pH 8,6 : Dissoudre 92,06 g de TRIS (hydroxynéthyl) amino méthane dans un litre d'eau. Ajuster le pH à 8,6 avec l'acide citrique.

b) Tampon acide borique, pH 8,6 : 18,6 g d'acide borique sont dissous dans 100 ml d'eau distillée. Le pH est ajusté à 8,6 par la soude concentrée.

c) Solutions colorantes :

- Noir amido 10 B	6 g
- Méthanol	500 ml
- Acide acétique	100 ml
- H ₂ O	500 ml

d) Solutions décolorantes :

- Méthanol	500 ml
- Acide acétique	100 ml
- H ₂ O	500 ml
- Glycérol	100 ml

2.2.8 - Mesure de la fermeté au pénétromètre VEB AP 4/1.

L'appareil utilisé permet la mesure de la profondeur de pénétration du module pendant un temps constant de 5 secondes. L'échelle de mesure est divisée en 300 degrés correspondant à une pénétration de 30 mm. Le module utilisé a été fabriqué à partir des indications données par SCHALINATUS et BEHNKE (1969) (figure 5).

Au moment de la mesure, le module tombe librement pendant 5 secondes. Il s'enfonce plus ou moins suivant la texture et la fermeté du produit.

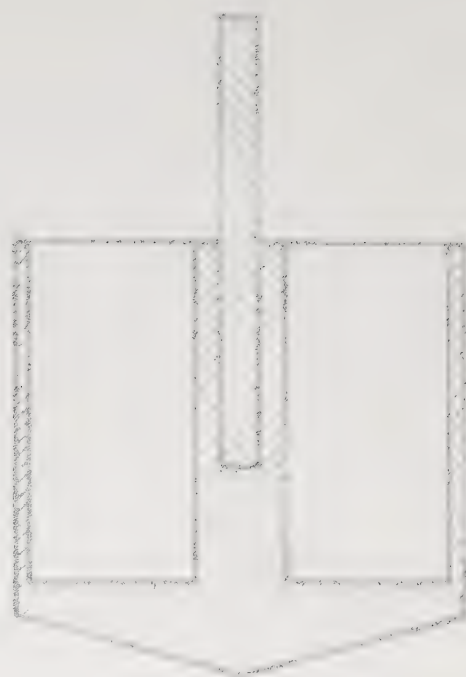
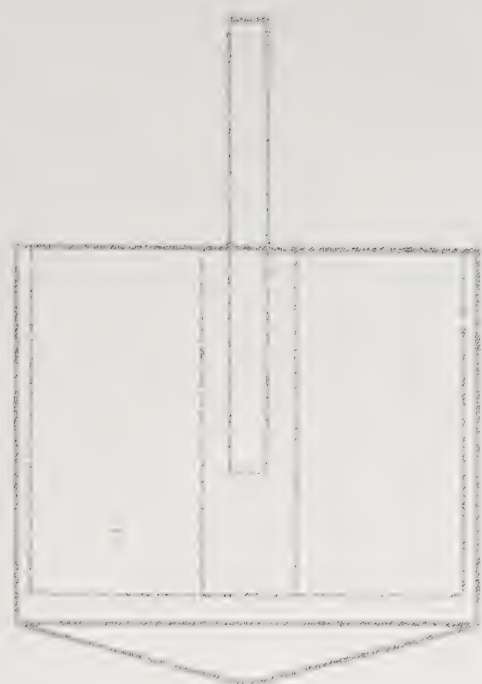


FIGURE 2 : Module de pénétration pour pâtes fraîches.

3 - RESULTATS

3.1 - MISE AU POINT DU DOSAGE INDIRECT DU PHOSPHORE DANS LE LAIT PAR SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE.

La plupart des métaux peuvent être dosés rapidement et avec une grande précision par "absorption atomique" par contre, un certain nombre de métaux, dont le dosage est très fréquent en pratique, n'ont pas les raies principales en résonance dans le champ spectral du spectrophotomètre de flamme. Des tentatives de dosage du soufre et du phosphore par absorption moléculaire directe, ont été faites en particulier par BRODIE (1969). Cette méthode présente l'inconvénient de nécessiter l'élimination préalable des nombreux cations qui interfèrent.

Le dosage indirect par "absorption atomique" du phosphore dans les solutions de phosphate minéral, sous forme de complexe avec un élément métallique a été préconisé notamment par ZAUGG et KNOX (1966).

En nous inspirant de ces indications, nous avons essayé de doser le phosphore total dans les produits biologiques sous forme d'acide phosphomolybdique. Ce complexe se forme d'une manière très reproductible dans des conditions opératoires bien définies ; on peut ainsi déterminer la quantité de phosphore dans un échantillon en utilisant la cathode creuse de molybdène.

Méthode de dosage

Les premières tentatives ont été faites sur du lait dont la matière organique a été détruite par digestion sulfurique. Le précipité de phosphomolybdate est ensuite formé avec un excès de molybdate d'ammonium, séparé par filtration, lavé avec une solution de nitrate d'ammonium pour éliminer l'excès de molybdate et finalement dissous par addition de soude. La solution alcaline est directement pulvérisée dans la flamme du spectrophotomètre. Les résultats sont reproductibles ; cependant, la technique n'apporte pas de grand avantage quant à la facilité et à la durée d'exécution. Nous avons également essayé d'extraire le phosphomolybdate, par séparation du précipité, par deux solvants organiques : l'hexane et le 2 - octanol ; on a observé que l'extraction était

Pour améliorer cette méthode, nous nous sommes inspirés des travaux d'HESLOP et RAMSEY (1969) qui ont étudié les conditions d'extraction des phosphates sous forme de vanadomolybdophosphates, afin de doser le phosphore par activation neutronique. Nous avons ainsi constaté que le phosphomolybdate est extractible directement dans la méthylisobutylcétone (M.I.B.C.). Les extractions sont quantitatives, à condition que le rapport $\text{Mo O}_4^{2-} / \text{PO}_4^{3-}$ soit égal ou supérieur à 40 et que le pH de la phase aqueuse soit voisin de 0,5.

On a adopté le mode opératoire suivant. A une prise d'essai contenant entre 100 et 200 ug de phosphore (par exemple : 1 à 2 ml de lait de vache dilué au 1/10 ; 2 ml de sérum sanguin...), dans un flacon à réaction en verre de 60 ml avec un bouchon en matière plastique stérilisable, on ajoute 1,25 ml d'acide perchlorique à 70 %. On porte le mélange à l'autoclave à 120° durant 1 heure environ. On forme, ensuite, le complexe phosphomolybdique par addition d'un excès de molybdate d'ammonium et on l'extrait dans le flacon à réaction par la M.I.B.C. sous agitation mécanique d'au moins 10 minutes. Pour séparer les phases, on centrifuge le mélange pendant 5 minutes à 2 000 tours/minute. La phase organique est finalement pulvérisée dans la flamme air-acétylène du spectrophotomètre dans les conditions précisées dans le tableau 4. Les teneurs en phosphore sont ainsi déterminées en fonction de l'absorption de la radiation 3 132,6 Å du molybdène. (LINDEN et COLL, 1971). Pour compenser les effets de matrice de toute espèce, la méthode de l'étalon interne a été adoptée.

TABIEAU 4 : Conditions opératoires du spectrophotomètre "DELTA"

Longueur d'onde : 3 132,6 Å

Intensité de la source : 9 mA

Fente :

Largeur : 0,17 mm

Hauteur : 5,0 mm

Flamme air/acétylène

Débit acétylène : 110 litres/heure

Débit air : 950 litres/heure

ESSAI COMPARATIF DE LA METHODE.

Différents produits ont été analysés par cette méthode et par la méthode colorimétrique de FISKE et SUBBAROW modifiée par BAMMA et COL (1948). Les résultats sont résumés dans le tableau 5. On voit qu'il y a une bonne concordance entre ces deux méthodes.

TABIEAU 5 : Résultats du dosage du phosphore dans différents produits (*)

	Absorption atomique	Méthode colorimétrique
Lait entier cru g/litre	0,67	0,68
Lait entier pasteurisé g/litre	0,84	0,86
Lait entier stérilisé g/litre	0,89	0,84
Lait concentré (non sucré) g/litre	2,62	2,64
Poudre de lait écrémé %	1,07	1,04
Caséine isoélectrique %	0,91	0,91
Sérum sanguin humain normal g/litre	0,0545	0,053

(*) moyenne de 2 ou 3 digestions.

...

3.2. - EFFETS DE LA CONCENTRATION ET DES VARIATIONS DU pH SUR LA DISTRIBUTION DES MINÉRAUX.

3.2.1. - Condition de l'expérience.

On a utilisé un lait de petit mélange fraîchement traité, concentré par évaporation sous vide à 47° C dans l'évaporateur rotatif E.I.V.S. Les extraits secs sont : 91,4 % pour le lait écrémé normal ; 165 % pour le lait écrémé concentré 1.80 fois et 228,9 % pour le lait écrémé concentré 2,5 fois.

Nous avons acidifié le lait concentré avec HCl 2 N à différents pH en gardant la même dilution de 5 % pour tous les essais. Le graphique de la figure (6) présente les courbes d'acidification. Elles confirment que le pouvoir tampon du lait concentré est plus faible que celui du lait normal dans certaines zones (ALAIS et TARODO, 1970).

3.2.2. - Distribution des minéraux dans le lait normal et concentré.

La distribution du calcium total, du magnésium, du sodium, du potassium et du phosphore, ainsi que les rapports entre eux sont donnés dans le tableau (6). La proportion du minéral sous forme colloïdale est donnée par la différence : total - soluble. Les valeurs indiquées sont celles de la troisième série d'essai. Deux essais préliminaires avaient donné des résultats semblables.

Figure 6. Schéma d'acidification

— Lait écrémé normal
 -x- Lait écrémé concentré 1,8 fois
 -o- Lait écrémé concentré 2,5 fois

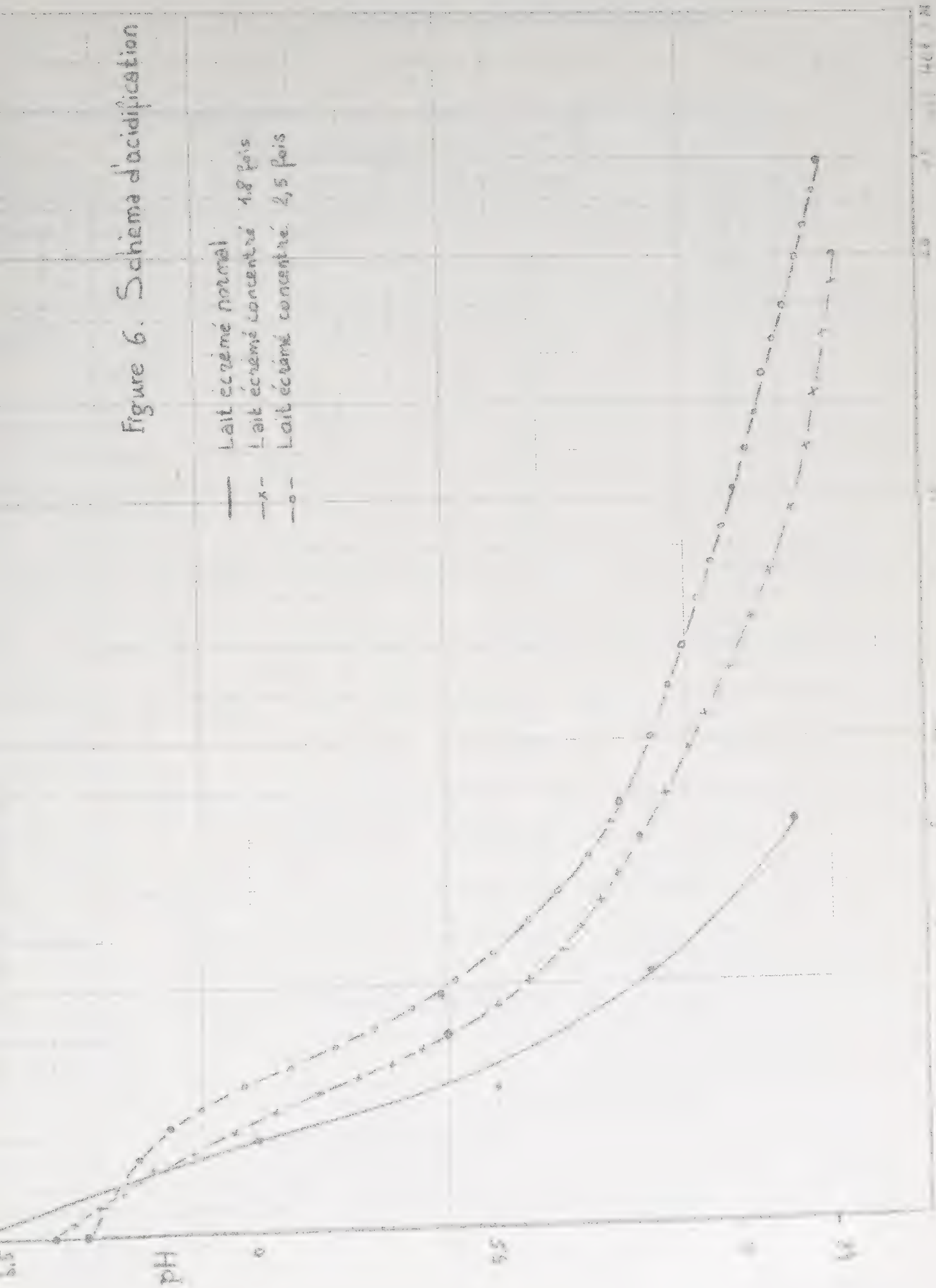


TABLEAU 6 : Distribution de quelques constituants solubles et colloïdaux dans le lait normal et dans le lait concentré

	Lait (*)		
	L E N	L E C 1,80	L E C 2,50
Calcium total g/l	1,07	2,01	2,56
% soluble	33,6	29,2	26,5
% ionique	13,1	12,93	12,89
Magnésium total g/l	0,081	0,140	2
% soluble	70	70,7	71,5
Sodium total g/l	0,49	0,84	1,2
% soluble	88	77,3	62,3
Potassium total g/l	1,87	3,4	4,7
% soluble	91,5	70,7	70,7
Phosphore total g/l	0,93	1,70	2,3
% soluble	47,2	43,0	43,5
Rapports :			
<u>Ca soluble</u>	0,50	0,41	0,36
Ca Colloïdale			
<u>Ca ++</u>	0,19	0,18	0,19
Ca Colloïdal			
<u>Mg soluble</u>	2,3	2,4	2,4
Mg Colloïdal			
<u>Ca Colloïdal</u>	1,45	1,44	1,44
P Colloïdal			
<u>Ca ++</u>	0,15	0,15	0,15
P total			
<u>Ca soluble</u>	0,81	0,95	1
P soluble			

La concentration du lait par évaporation provoque une libération d'ions H^+ mise en évidence par une légère baisse du pH, environ 0,18 pour une concentration de 1,80 fois et 0,25 pour une concentration de 1,80 fois et 0,25 pour une concentration de 2,50 fois. Malgré cette diminution du pH on observe un déplacement du calcium, du sodium, du potassium et du phosphore de la phase soluble vers la phase insoluble. La proportion du calcium soluble passe de 33,6 à 29,2 et 26,5 % pour une concentration de 1,80 et de 2,50 respectivement. Le magnésium ne paraît pas suivre cette règle ; il est possible qu'il y ait une légère solubilisation ; c'est l'élément le plus stable.

En ce qui concerne le phosphore, la proportion de la partie soluble passe de 47,2 à 43,0 et 43,5 pour une concentration de 1,80 et 2,50 respectivement.

Pour le sodium et potassium, nous observons un passage plus important de l'état soluble à l'état colloïdal.

Le passage de la phase soluble vers la phase insoluble montre que même en concentrant à basse température (47° C), le traitement modifie l'équilibre salin. Le rapport Calcium soluble/ Calcium colloïdal s'abaisse brusquement de 0,50 dans le lait normal à 0,41 et 0,36 dans le lait écrémé concentré ; ce qui démontre l'important passage du calcium de l'état soluble à l'état colloïdal. Mais la variation entre les deux laits concentrés (0,41 à 0,36) nous permet de dire que le changement d'état n'est pas proportionnel au taux de concentration.

Le rapport Calcium ionique/Calcium colloïdal ne montre presque pas de variation ; le taux du calcium ionisé augmente de la même manière que celui du calcium colloïdal, dans l'intervalle de concentration considéré.

Le rapport Calcium colloïdal/Phosphore colloïdal reste également stable ; l'évolution de ces deux minéraux est donc comparable.

.../...



- Lait écrémé normal
 -o- Lait écrémé concentré 2,5

Figure 7 Solubilisation du Calcium

3.2.3. - Solubilisation des minéraux en fonction du pH.

Pour éviter tout risque de formation des grumeaux, nous n'avons descendu le pH qu'à 4,8, nous n'avons donc pas la déminéralisation complète ; le pourcentage de solubilisation des différents minéraux. Il situe aux environs de 90 %.

La solubilisation de calcium à différentes valeurs de pH est représentée dans la figure (7). A pH 6, le taux de calcium soluble est en moyenne de 36,5 % pour les laits concentrés. Ce pourcentage s'élève à 50 % environ dans le lait écrémé normal. Ce décalage se retrouve à chaque pH comme le montre la figure.

Dans les conditions opératoires utilisées, il reste encore à pH 4,8, 25 % environ du calcium sous forme insoluble dans les laits concentrés contre 10 % dans le lait écrémé normal.

En ce qui concerne le magnésium, la figure (8) montre qu'il y a beaucoup moins d'écart entre les taux de magnésium soluble des laits normaux et concentrés. A pH 6, ce taux est de 73 % en moyenne pour les laits concentrés et de 79 % seulement pour les laits écrémés normaux. Ceci semble indiquer que le phénomène de fixation des cations sur la caséine intéresse beaucoup moins le magnésium que le calcium.



- Lait écrémé normal

- Lait écrémé concentré [2.5]

Figure 1. Solubilité du magnésium



Figure 9 Solubilisation du Phosphore

[2,5]

La figure (9) montre que la solubilisation du phosphore inorganique en fonction de l'acidité évolue parallèlement dans les laits normaux et concentrés. L'écart observé entre le taux de phosphore soluble dans les deux types de lait sont de même signe et du même ordre de grandeur que pour le calcium.

Pour le sodium et le potassium, l'acidification entraîne une solubilisation semblable dans des laits normaux et concentrés avec un écart de 4 à 5 % seulement en faveur du lait normal.

.../...

3.3. - INFLUENCE DU PROCEDE DE MATURATION SUR LES PROPRIETES DES CAILLES ACIDES.

3.3.1. - Plan de l'expérimentation.

Le tableau (7) montre le plan de cette partie de nos recherches qui est, avec la suivante (3.4.) la plus importante de notre programme.

On a comparé la méthode traditionnelle de maturation par les ferments lactiques (acidification biologique) à la méthode encore peu utilisée d'acidification directe par addition d'acide chlorhydrique (acidification chimique).

TABLEAU 7 - Plan de l'expérimentation.

Après maturation biologique ou acidification chimique
le lait est amené à la température de : puis coagulé après

				: ...C°	: ... h	: à... ° C
N° des essais				:	:	:
Sans calcium		avec calcium		:	:	:
maturation	:	:	:	:	:	:
biologique	chimique	biologique	chimique	:	:	:
11	:	31	:	22	0	22
12	22	32	42	12	0	22
121	221	321	421	12	0	12
122	222	322	422	12	2	12
123	223	323	423	12	5	12
	210		410	2	0	2
13	21	33	41	2	0	2
14	:	34	:	2	2	:
15	:	35	:	2	5	:

3.3.2. - Compositions chimiques des laits utilisés.

Le tableau 8 montre que la concentration entraîne une chute de pH de l'ordre de 0,06 à 0,2 unités. Le facteur de concentration calculé à partir des teneurs en extrait sec et des quantités de matières azotées des laits normaux et concentrés varie peu, de 2,30 à 2,48. Il est cependant suffisant pour provoquer une variation importante du taux de calcium soluble. En effet, alors que le pourcentage moyen de calcium soluble dans le lait normal est de 33,8 ou de 31,8 selon que l'on a ou non ajouté du calcium, ce pourcentage tombe à 24,2 ou 21,8 dans les laits concentrés correspondants. Il faut remarquer que ce déplacement de l'équilibre calcique reste important malgré l'effet contraire de la variation de pH qui tend vers une solubilisation des sels. La quantité d'eau d'hydratation trouvée pour le lait écrémé normal varie de 54,7 à 79 g par kilo autour d'une valeur moyenne égale à 66 g. Après concentration du lait, la teneur moyenne en eau d'hydratation est de 144 g par kilo et le rapport $\frac{\text{poids d'eau d'hydratation du LEC}}{\text{poids d'eau d'hydratation du LEN}}$ est égal à 2,2 légèrement inférieur au rapport de concentration.

.../...

TABLEAU 3 - Composition chimique des laits utilisés*

N°	11		12		14		121		210		31		33		321		41		410	
	LN	LC	LN	LC	LN	LC	LN	LC	LN	LC	LN	LC	LN	LC	LN	LC	LN	LC	LN	LC
pH	6,62	6,52	6,65	6,52	6,48	6,42	6,55	6,40	6,70	6,55	6,52	6,32	6,52	6,35	6,52	6,42	6,48	6,35	6,62	6,54
E.S. g/kg	91,7	218	91,5	208	92	222	91,9	221,5	83,8	214,1	90,6	227,2	93,2	227,4	89,9	217,3	89,7	218,7	87,5	217,4
Matières azotées g/kg	33,6	80,7	33,6	78	35,4	84	33,7	82,4	32,3	76	34	83,5	35,7	86,9	32,7	78,5	34,3	82,4	32,7	78,2
Facteur de concentration**	2,39		2,3		2,39		2,43		2,45		2,48		2,43		2,41		2,42		2,43	
Lactose g/kg	46,5	109,2	46	102,1	48,1	113,5	47,6	116,5	49,1	118,4	46,5	114,1	46	113,3	47,6	115,9	45,5	108,7	46	112,2
Calcium g/kg	1,26	3,13	1,3	2,99	1,14	2,9	1,35	3,22	1,24	2,81	1,2	2,92	1,28	3,14	1,28	3,01	1,2	2,97	1,24	2,9
p. 100 de Ca soluble	29,4	21,2	33	23,7	32,4	—	28,6	20,2	35,5	27,2	32,5	25,2	30,9	22	33,1	22,2	36,3	26,2	33,6	25,5
Eau d'hydratation g/kg	66,9	158	79	132,5	64,9	150	71,4	143,5	54,7	144,1	60,5	123	66,6	149,5	64,6	143,5	64,3	148,9	60,3	146

* Après pasteurisation (L.N.) et concentration (L.C.).

** Calculé d'après l'analyse de l'extrait sec et de l'azote total.

3.3.3. - Composition des sédiments d'ultracentrifugation.

Le poids des culots d'ultracentrifugation varie peu pour des laits semblables (tableau 9). Pour les laits non concentrés, le poids moyen du culot sec est de 32 g par kilo, pour les laits concentrés, il est égal à 79,4 g. Le rapport $\frac{\text{poids du culot LEC}}{\text{poids du culot LEN}}$ est ici égal à 2,48, c'est-à-dire voisin du rapport de concentration calculé d'après les valeurs des E.S. Ce résultat est en accord avec ceux des essais préliminaires qui avaient montré que l'augmentation du poids du culot variait proportionnellement avec l'E.S. dans les conditions opératoires utilisées et pour des E.S. allant de 8 à 32 %.

La quantité de calcium trouvée dans le culot de centrifugation est très variable, aussi bien pour le lait normal que pour le lait concentré, ce qui semble indiquer que la quantité de calcium liée aux protéines sédimentées est une caractéristique du lait : il y aurait des laits à taux de calcium lié élevé et d'autres où ce taux serait faible.

L'influence de la concentration est nette en ce qui concerne la quantité de calcium retrouvée dans le culot d'ultracentrifugation quand on l'exprime par gramme de protéines du culot. Elle est toujours supérieure dans le cas du lait concentré ce qui, compte tenu des erreurs dues à l'eau d'hydratation qui renferme du Ca soluble et même du Ca fixé dans le cas du LEC, correspond bien au déplacement de l'équilibre calcique. La concentration du lait entraîne donc bien une minéralisation plus importante de la caséine.

Pour le lait normal les matières azotées représentent en moyenne 81,5 % du poids du culot sec ; pour le lait concentré ce pourcentage tombe à 65,6 %. Il y a donc augmentation du poids des substances non protéiques précipitées.

Cette diminution du pourcentage des matières azotées précipitées dans le culot de centrifugation entraîne une diminution de l'eau d'hydratation par g de culot sec, alors que la quantité d'eau par gramme de protéines du culot est du même ordre de grandeur pour laits normaux ou concentrés, ou même légèrement supérieur (tableau 9).

TABLEAU 9 : Poids et hydratation du sédiment

N°	Poids du sédiment g/kg lait		Eau d'hydratation			
			par gramme de culot sec		par gramme de protéines	
	L E N	L E C	L E N	L E C	L E N	L E C
11	31,65	77,4	2,11	1,79	2,62	2,76
12	32	78,2	2,47	1,96	3,03	2,96
14	31,9	79,6	2,24	1,80	2,71	2,79
121	32,5	86,2	2	1,74	2,49	2,65
21	-	67,7	-	1,76	-	2,64
210	30,8	67,5	1,97	1,82	2,4	2,8
31	32,2	85	2,07	1,76	2,51	2,68
33	30,3	83,9	2,12	1,78	2,44	2,60
321	36,3	88,3	1,51	1,64	2,14	2,73
41	29	80	2,23	1,74	2,59	2,52
410	27,4	81,2	2,20	1,80	2,22	2,58

3.3.4. - Influence de l'addition de calcium au lait sur sa composition et celle du culot correspondant.

L'addition de calcium au lait écrémé concentré est réalisée à raison de 4,5 m-moles par kilo, ce qui est une addition faible. Le tableau 10 montre que la baisse de pH consécutive est appréciable et de l'ordre de 0,07 unité pH. On ne semble pas y avoir de variation significative du pourcentage de calcium soluble, ni de l'eau d'hydratation, ni du pourcentage total du calcium précipité dans le culot. Il y a par contre une légère augmentation du poids de sédiment de centrifugation et du % d'azote précipité.

TABLEAU 10 - Influence de l'addition de calcium

	pH		Ca		% Ca soluble		Ca %		Ca T		Ca/g protéine		Poids culot		N culot		% NT		Eh	
	LEC	LEC Ca	LEC	LEC Ca	LEC	LEC Ca	LEC	LEC Ca	LEC	LEC Ca	LEC	LEC Ca	LEC	LEC Ca	LEC	LEC Ca	LEC	LEC Ca	LEC	LEC Ca
321	6,35	6,28	5,61	3,39	22,2	20,9	67,6	64,8	36,9	38,9	80	82,9	70,3	71,7	139	143,5				
33	6,61	6,39	3,14	5,25	22	23,4					85	89,5	64,4	70	149,5	148,5				
43	6,20	6,16	2,97	5,19	26,2	25,5	72,8	72,4	37,7	38,1	83,9	86,3	69,6	72,5	148,9	149				

3.3.5. - Conséquences technologiques du type de maturation et de la conservation du lait concentré maturé.-

3.3.5.1. - Effets de la température du lait au moment de la coagulation sur la fabrication.

a) après maturation biologique.

Les laits utilisés sont comparables en composition et en pH aussi bien en ce qui concerne les laits normaux et concentrés que les laits concentrés maturés. Le tableau 11 montre que les extraits secs des pâtes sans calcium sont légèrement supérieurs aux extraits secs des pâtes avec calcium. On remarque en même temps un pH légèrement plus élevé du LECM pour un extrait sec élevé de la pâte et au contraire un extrait sec de la pâte variant en fonction inverse de l'extrait sec du lait concentré maturé.

TABEAU 11 : Influence de l'addition de calcium et de la température du lait au moment de la coagulation

N°	Température	Extrait Extrait sec	pH	Lactose	E.S. de la pâte corres- pondante
a)	<u>sans addition de calcium</u>				
11	22	19,99	4,8	83,9	13,95
12	12	18,59	4,82	85,1	14,35
13	2	18,60	4,82	84,5	14,26
b)	<u>avec addition de calcium</u>				
31	22	20,5	4,78	81,4	10,55
32	12	20,32	4,78	85,9	11,06
33	2	19,86	4,85	-	11,06

La température du lait concentré mûré au moment de la coagulation ne semble pas intervenir beaucoup sur l'extrait sec de la pâte. On peut cependant noter que la coagulation du lait concentré refroidi à 2° donne des extraits secs élevés dans la pâte pour des extraits secs faibles des laits de départ.

Le rapport $\frac{\text{extrait sec total retrouvé dans le caillé}}{\text{extrait sec total apporté par le lait mûré}}$ varie peu comme l'indique le tableau 12. Les variations de poids de caillé observées sont liées à l'égouttage et il faut noter, pour ces deux séries, que les bilans en matière sèche sont satisfaisants.

TABLEAU 12 - Rendements

N°	Poids de caillé %	Poids d'E.S. du	Poids d'E.S. du
	LECM	caillé % de l'E.S. du LECM	sérum % de l'E.S. du LECM
11	75,6	54,2	47,9
12	74,5	57,1	44,5
13	70,6	54	46,7
31	90	55	42,2
32	91	53,7	43,2
33	75,6	53	48,1

Les expériences d'ultracentrifugation réalisées avec les pâtes obtenues montrent (tableau 13) que les sédiments contiennent des quantités variables d'azote. Le pourcentage d'azote dans le sédiment par rapport à l'azote total de la pâte varie en effet inversement avec la quantité de protéines du sérum présente dans le caillé.

On peut remarquer que les pâtes les plus fermes sont dans l'ensemble celles dont les sédiments sont les plus riches en azote. De plus, la teneur des sédiments en azote et la fermeté des pâtes augmentent quand la température du lait avant la coagulation diminue, comme le montre le tableau (13).

La quantité d'eau d'hydratation des pâtes fraîches ne semble pas influencée par la température du lait avant la coagulation ni par l'addition de calcium au lait avant maturation. La quantité de calcium retrouvée dans le culot par gramme de protéines du culot semble être plus faible dans le cas où le lait est additionné de calcium. D'autre part, une fermeté élevée est toujours liée à une teneur en calcium par g de protéines élevée ; il semble qu'au-dessous d'une certaine teneur en calcium les pâtes soient obligatoirement liquides.

Le rapport qui existe entre l'E.S. apporté par le sérum dans la pâte et l'extrait sec restant, c'est-à-dire en grande partie, la caséine précipitée, semble être le meilleur paramètre d'appréciation d'une bonne ou d'une mauvaise fermeté. Lorsque ce rapport, appelé "rapport des extraits secs" dans le tableau 13, dépasse 0,9 pour les caillés étudiés, les pâtes obtenues sont liquides. Au-dessous de 0,9 elles sont d'autant plus fermes que l'indice est bas.

TABLEAU 13 - Relations entre la fermeté du caillé et de sa teneur
en matières protéiques et en calcium.

Température du lait avant coagulation ° C	Indice de fermeté	Protéines totales : p.100 de caillé	Protéines du sérum p. 100 de caillé	Protéines sédimentées p.100 de protéines totales	Calcium en mg p.g. de protéines du sédiment	Eau d'hydratation en g par g de protéines du sédiment	Rapports des extraits secs x
a) sans calcium ajouté							
22	15,4	8,3	0,83	90,5	3,78	1,54	0,76
12	19,6	8,4	0,65	94,7	2,48	1,44	0,69
2	20,8	8,5	0,86	97	2,44	1,50	0,68
b) avec calcium ajouté							
22	liquide	7,1	0,97	83,4	1,04	1,40	1,01
17	liquide	6,3	1,44	87	0,83	1,43	1,13
2	6,8	8,1	0,85	94	1,42	1,62	0,72

b) après acidification chimique.

L'essai 22 obtenu par acidification à l'acide chlorhydrique comme tous ceux du tableau 8, a donné, sans raisons apparentes, un poids de caillé élevé (28,5 kg) pour un poids de lait comparable à l'essai 21 et un extrait sec très faible dans la pâte. La composition du lait correspondant est pourtant normale de même que son pH ; il semble difficile de mettre en cause la température du lait avant coagulation, les autres essais n'étant pas concordants.

Le rendement en extrait sec est nettement plus élevé pour l'essai 22, tableau 14, résultat qui se produit chaque fois que l'extrait sec de la pâte est faible : plus le caillé obtenu est hydraté, plus importante est la quantité de matière sèche retenue dans l'ensemble du caillé.

Tableau 14 - Influence de la température du lait avant la coagulation sur les rendements en extrait sec

1	Température du lait avant coagulation ° C	E.S. du lait concentré mûré %	pH du lait concentré mûré	Poids de caillé obtenu % IECM	Extrait sec de la pâte	Rendement en extrait sec
a) sans calcium ajouté						
22	12	18,75	4,82	81,5	12,2	52,5
221	12	17,89	4,60	36	19,6	39,4
21	2	18,67	4,82	40,5	17,6	38,4
210	2	17,84	4,60	32	19	34
b) avec calcium ajouté (4,5 m-moles par kg de LC)						
421	12	18,13	4,78	33,3	19,1	35
410	2	18,29	4,78	32	19,1	33,4

3.3.5.2. - Effets du temps de stockage à une température donnée sur la fabrication.

a) après maturation biologique.

Le tableau 15 montre les effets du stockage à 12 et à 8° avant coagulation sur les fabrications obtenues après maturation biologique. Les laits sont comparables en E.S. et en pH pour une même série d'essais. On remarque que l'augmentation des temps de stockage entraîne une diminution de l'extrait sec de la pâte, faible pour la température de 12°, sensiblement plus forte pour la température de 2° ; cette diminution est toujours accompagnée d'une augmentation très apparente pour les coagulations de lait maintenu à 12°.

Le meilleur rendement obtenu après un stockage de 5 h à 12 ou 2° s'accompagne d'une liquéfaction du produit qui coïncide avec une augmentation de la quantité de protéines du sérum retenue dans la pâte. Le rapport des extraits secs est élevé dans ce cas et il augmente en moyenne avec la durée du stockage avant coagulation.

La fermeté des pâtes ne semble pas influencée par la quantité d'eau d'hydratation ; par contre la quantité de calcium que l'on retrouve dans le culot et qui décroît avec le temps de stockage, joue certainement sur la fermeté.

TABLEAU 15 - Influence du stockage du lait après maturation biologique.

	<u>Stockage</u>		<u>Lait</u>			<u>Caillé</u>			<u>Sédiment du caillé</u>		<u>Rende-</u>
	<u>Tempé-</u> <u>rature</u> <u>% C</u>	<u>Durée</u> <u>h</u>	<u>extrañ</u> <u>sec</u> <u>%</u>	<u>Lacto-</u> <u>se</u> <u>%</u>	<u>pH</u>	<u>Extrañ</u> <u>sec</u> <u>%</u>	<u>Indice</u> <u>de</u>	<u>Rappat</u> <u>dos</u> <u>E.S.</u>	<u>Ca ng</u> <u>par ng</u> <u>protéine</u>	<u>Eau d'hy-</u> <u>dratation</u> <u>g protéine</u>	<u>ment</u> <u>en</u> <u>E.S.</u>
121	12	0	19	9,2	4,68	13,2	20,8	0,77	2,66	1,52	50,8
122	"	2	19,2	8,71	4,68	13,7	23,8	0,88	2,68	1,5	53
123	"	5	19,2	9,67	4,69	12,1	Liquide	0,92	2,24	1,48	67,3
321	"	0	19	9,04	4,75	14,3	41,5	0,6	2,63	1,48	50,3
322	5	2	19,1	9,06	4,75	13,3	20,4	0,75	2,48	1,61	51
323	"	5	19,1	8,92	4,75	13,5	16,1	0,79	2,14	1,6	52,3
13	2	0	18,7	8,43	4,82	14,3	20,8	0,68	2,44	1,5	53,9
14	"	2	19,6	8,77	4,85	10,5	Liquide	1,78	0,53	1,12	52,5
15	"	5	19,4	8,44	4,92	9,1	Liquide	2,76	0,65	1,5	49,9
33	"	0	19,9	-	4,85	13,9	6,58	0,72	1,42	1,62	53
34	"	2	20,2	-	4,85	11,8	Liquide	1,04	0,89	1,65	47,9
35	"	5	20	8,33	4,85	12	Liquide	0,9	1,07	1,65	54,9

b) après acidification chimique.

Dans ce cas encore l'extrait sec du caillé diminue quand le stockage augmente ; il en est de même pour le poids du sédiment de centrifugation (tableau 16). Par contre le poids de caillé et le rendement en extrait sec augmentent. La fermeté du caillé est liée à la teneur du sédiment en calcium, à sa teneur en lactose et elle varie conformément aux résultats déjà obtenus.

.../...

TABLEAU 16 - Influence du stockage du lait après acidification chimique

N°	Stockage		Lait		pH	Extrait sec	Caillé Indice de fermeté	Rapport des E.S.	Sédiment du caillé		Rendement en E.S.
	Tempé- rature ° C	Durée h	Extrait sec %	Lactose %					Ca mg/g protéines	Eau d'hy- dratation g/protéine	
221	12	0	17,8	9,3	4,6	19,6	125	0,34	2,61	1,36	39,4
222	"	2	17,7	9,1	4,6	16,9	45	0,45	3,02	1,52	43
223	"	5	17,8	8,9	4,6	15,9	22,7	0,47	2,39	1,44	43,5
421	"	0	18,1	9,2	4,78	19,1	très ferme	0,39	4,45	1,22	35,05
422	"	2	18,3	9,4	4,78	19,1	66,6	0,38	5,15	1,28	35,6
423	"	5	18,3	9,8	4,78	18,3	77	0,42	5	1,29	38,6

3.4. - EFFETS DE L'ENRICHISSEMENT EN DIVERSES SUBSTANCES SOLUBLES
DU LAIT CONCENTRE SUR LA COMPOSITION ET LES PROPRIETES DES
CAILLES ACIDES.

3.4.1. - Effets de l'enrichissement en calcium du lait concentré.

3.4.1.1. - Maturation biologique.

Après 17 heures de maturation lactique le pH du lait concentré est descendu de 6,5 à 4,8. La coagulation est alors réalisée comme il a été indiqué.

Le tableau (17) montre que l'addition de calcium provoque l'augmentation de l'extrait sec et de ses constituants : matières azotées, calcium et phosphore, dans la pâte. Cependant, au-delà de 25 m-moles de calcium ajouté l'extrait sec des pâtes redescend, alors que le calcium total augmente encore. Le calcium fixé par g de protéines sédimentées augmente fortement, après addition de calcium, mais d'une manière irrégulière. Cette fixation relativement forte du calcium correspond à une augmentation du pourcentage des protéines sédimentées, qui oscille entre 91 et 96 % : mais il n'y a pas une corrélation continue entre calcium et azote du sédiment.

L'eau d'hydratation est relativement faible, ce qui pourrait expliquer le manque d'homogénéité de la pâte qui présentait une structure très granuleuse. Cette pâte était également très amère du fait de la forte teneur en calcium total.

Nous observons à nouveau qu'un rendement élevé coïncide avec une faible fermeté de la pâte ; elle ne semble d'ailleurs pas être nettement augmentée par l'addition de calcium, dans les conditions opératoires utilisées.

Il est à noter que le pH des pâtes après homogénéisation est plus élevé (4,9 à 5,25) que le pH du lait concentré avant la coagulation par l'eau chaude. Les raisons de cette modification assez importante n'apparaissent pas clairement, mais l'effet de la dilution intervient probablement.

.../...

TABLEAU 17 - Effet de l'addition du calcium sur la composition et les propriétés des caillés.

- 55 -

1 - Maturation biologique.

	Caillé de lait concentré				
	Sans calcium: (Po)	Avec addition de Cl_2 Ca (p. kg de lait)	25 mM	50 mM	75 mM
					100 mM
pH	4,97	5,12	5,19	5,24	5,25
Extrait sec g/kg	156,5	180,0	175,3	172,3	194,4
Matières azotées g/kg	85,7	106,5	102,8	96,3	101,4
Calcium total g/kg	1,51	2,64	3,08	4,02	-
Phosphore total g/kg	1,43	1,83	1,83	2,00	-
Azote du sédiment p.100 de l'azote total	92,2	93	95,5	96,0	91,1
Ca mg/g protéines du sédiment	2,14	12,6	5,23	17,0	7,8
Eau d'hydratation g/g protéines du sédiment	1132	1,59	1,22	1,00	1,03
Poids des pâtes obtenues par g/2,3 kg du lait nor.	625	387	690	580	696
Rendement en extrait sec	46,1	49,1	57,0	47,1	63,7
Indice de fermeté	13	19	13	14	10

3.4.1.2. - Acidification chimique.

L'addition d'acide chlorhydrique au lait concentré est suivie au moment de la coagulation d'une agglomération plus rapide des grains de caillé qui sont eux-mêmes plus gros et plus grossiers que dans le cas des maturations biologiques.

L'extrait sec des pâtes obtenus de cette manière est plus élevé sauf dans un cas, qu'avec la maturation lactique. Par contre, le rendement est bien plus faible. Le tableau (17 bis) montre que les extraits secs et les matières azotées varient dans le même sens que l'indice de fermeté.

Les teneurs en phosphore et en calcium des pâtes sont ici inférieures à ce qu'elles étaient dans le cas des maturations biologiques. Cependant, la quantité de calcium fixée sur les protéines n'est pas régulièrement plus faible ; elle est même parfois plus élevée ; mais elle croît plus régulièrement avec l'addition de calcium. Comme dans le cas de la maturation biologique, nous avons un taux de protéines sédimentées très élevé.

L'augmentation de la fermeté des pâtes avec l'addition de calcium est ici plus apparente que dans le cas de la maturation biologique. Cependant leur texture est encore très granuleuse bien que leur teneur en eau d'hydratation soit assez élevée. Les pâtes étaient moins anères que dans le cas de la maturation biologique.

TABLEAU 17 bis - Effet de l'addition du calcium sur la composition et les propriétés des caillés.

II - Acidification chimique

	Caillé de lait concentré				
	Sans calcium (Po)	Avec addition de Cl_2 Ca (p. kg de lait)			
		25 mM	50 mM	75 mM	100 mM
pH	4,85	4,84	4,83	4,84	4,84
Extrait sec g/kg	203,0	180,0	213,6	221,3	229,2
Matières azotées g/kg	123,6	90,7	121,2	127,3	127,5
Calcium total g/kg	1,44	1,96	2,60	-	2,90
Phosphore total g/kg	0,56	0,81	0,69	0,67	0,72
Azote du sédiment p.100 de l'azote total	92,0	93,5	97,0	95,6	96,1
Ca mg/g protéines du sédiment	2,7	4,05	7,30	7,92	11,2
Eau d'hydratation g/g protéines du sédiment	1,33	1,27	1,57	1,67	1,79
Poids des pâtes obtenues en g/4,6 kg du lait nor.	436	618	388	403	431
Rendement en extrait sec	20,0	22,0	18,7	20,1	22,3
Indice de fermenté	8	4	27	25	17

3.4.2. - Effets de l'enrichissement en lactose du lait concentré

3.4.2.1. - Maturation biologique.

On peut remarquer dans le tableau (18) la faiblesse des extraits secs bien qu'elle se produise également dans le cas de Po. Elle conduit à des produits très fluides comme l'indiquent les mesures au pétréromètre. Dans ces conditions, les quantités relativement plus élevées de calcium fixé par gramme de protéines correspondent à de faibles valeurs de l'indice de fermeté.

Avec 25 g d'addition de lactose par kg de lait concentré, le poids de pâte est inférieur à celui de l'essai témoin Po ; mais avec 50 et 75 g les poids des pâtes obtenues sont en augmentation assez forte, de même que le rendement.

Les pâtes obtenues présentent une texture homogène non granuleuse et un taux d'hydratation assez élevé.

TABEAU 18 - Effet de l'addition du lactose sur la composition et les propriétés des caillés

I - Maturation biologique.

	Caillé de lait concentré		
	Sans lactose: (Po)	Avec addition de lactose (par kg de lait)	75 g
pH	4,72	4,84	4,87
Extrait sec g/kg	113	125	151
Matières azotées g/kg	61,1	61,2	71,9
Calcium total g/kg	1,25	1,22	1,22
Phosphore total g/kg	1,04	0,90	-
Azote du sédiment p.100 de l'azote total	-	56	63
Ca mg/g protéines du sédiment	3,23	4,43	3,91
Eau d'hydratation g/g protéines du sédiment	1,81	2,09	1,84
Poids des pâtes obtenues en g/2,3 kg du lait nor.	893	720	1100
Rendement en extrait sec	40	44	54,9
Indice de fermeté	< 3	< 3	4

3.4.2.2. - Acidification chimique.

Les extraits secs des pâtes sont élevés par rapport à la maturation biologique, mais l'écart est plus fort qu'on le constate habituellement (tableau 18 bis). La teneur des différentes pâtes en matières azotées est très variable : il semble que cette variabilité soit plutôt d'ordre méthodologique ; il est difficile de reproduire au laboratoire d'une manière constante les conditions de l'égouttage.

On constate une diminution du taux de protéines sédimentées, forte et régulière, par rapport à l'essai témoin ; à mesure que la quantité de lactose ajoutée augmente.

Le calcium total trouvé dans les pâtes avec différentes additions est faible si on les compare avec Po, mais le taux de Ca lié aux protéines va en augmentant fortement et il est plus élevé que dans le cas de la maturation biologique. Cet accroissement en calcium fixé correspond à une fermeté relativement élevée des pâtes obtenues.

Dans tous les cas, les poids des pâtes sont supérieurs par rapport à l'essai témoin. Le rendement en extrait sec montre une augmentation régulière à mesure que l'addition de lactose augmente ; par contre, la fermeté des caillés va en diminuant.

.../...

caillés.

II - Acidification chimique.

	Caillé de lait concentré		
	Sans lactose: (Po)	Avec addition de lactose (p.kg de lait)	
	25 g	50 g	75 g
pH	5,03	4,76	4,77
Extrait sec g/kg	284,0	232,0	205,0
Matières azotées g/kg	127,0	114,2	106,2
Calcium total g/kg	2,37	1,44	1,28
Phosphore total g/kg	2,20	1,91	1,70
Azote du sédiment p.100 de l'azote total	91,7	67,8	50,2
Ca mg/g protéines du sédiment	1,30	5,64	4,90
Eau d'hydratation g/g protéines du sédiment	2,50	2,09	2,07
Poids des pâtes obtenues en g/4,6 kg du lait nor.	248	649	820
Rendement en extrait sec	17,9	34	37
Indice de fermeté	44,5	37	18,3
			10,6

3.4.3. - Effets de l'enrichissement en protéines du sérum du lait concentré.

3.4.3.1. - Maturation biologique.

On constate une diminution de l'extrait sec peu importante mais régulière liée à l'augmentation des quantités de protéines du sérum ajouté ; il se produit parallèlement une diminution de matières azotées, du calcium et du phosphore (tableau 19) .

Pour tous les essais, l'azote sédimenté est élevé et la quantité de calcium fixée sur les protéines est, comme dans le cas d'addition de lactose, assez faible. Elle est sans aucun doute une des causes du manque de fermeté des pâtes obtenues.

L'eau d'hydratation montre une augmentation peu importante mais régulière. D'autre part, les poids des pâtes montrent une augmentation marquée de même que les rendements en extrait sec.

Dans tous les cas les pâtes sont liquides, mais la sensibilité du pénétrromètre utilisé, ne nous a pas permis de mettre clairement en évidence l'action des additions de protéines du sérum. Il est à noter que la texture des caillés obtenues par addition de protéines du sérum est très fine.

TABLEAU 19 - Effet de l'addition des protéines du sérum sur la composition et les propriétés des caillés.

I - Maturation biologique.

	Caillé de lait concentré		
	Sans protéine: su sérum (Po)	Avec addition des protéines du sérum (par kg de lait)	
	40 g	80 g	120 g
pH	4,71	4,68	4,57
Extrait sec g/kg	109,6	106,3	89,9
Matières azotées g/kg	51,0	50,5	36,0
Calcium total g/kg	1,29	1,14	1,01
Phosphore total g/kg	2,23	1,92	1,61
Azote du sédiment p.100 de l'azote total	93,0	94,5	93,5
Ca mg/g protéines du sédiment	2,16	2,27	2,34
Eau d'hydratation g/g protéines du sédiment	1,37	1,41	1,42
Poids des pâtes obtenues en g/2,3 kg de lait nor.	797	1150	1280
Rendement en extrait sec	40,9	57,3	61,5
Indice de fermeté	< 3	< 3	< 3

3.4.3.2. - Acidification chimique .

Comme dans le cas de la maturation biologique, on observe une diminution de l'extrait sec régulière mais cette fois plus importante ; les matières azotées, le calcium total et le phosphore total diminuent de même (tableau 19 bis).

Comme pour la maturation biologique le taux de protéines sédimentées est assez élevé ; au contraire, le taux de calcium fixé est très faible. Malgré cela, la fermeté des pâtes est assez élevée sans que l'on puisse en donner une explication rigoureuse. Il faut également noter la faiblesse du pH de toutes les pâtes ; l'explication de ce fait étant vraisemblablement d'ordre technologique. En effet, pendant l'acidification chlorhydrique la formation rapide des grains de caillés emprisonné des ions H^+ qui seront libérés au moment de l'homogénéisation des caillés. On a d'ailleurs noté, au moment de la fabrication, que les pâtes présentaient une structure très fine et très légère ; une partie des grains du caillé flottait même sur le sérum, contrairement aux essais précédents.

.../...

TABLEAU 19 bis - Effet de l'addition des protéines du sérum sur la composition
et les propriétés des caillés.

II - Acidification chimique.

	Caillé de lait concentré		
	Sans protéine: du sérum (Po)	Avec addition des protéines du sérum (p. kg de lait)	
	40 g	80 g	120 g
pH	4,03	4,05	4,42
Extrait sec g/kg	194,9	138,5	129,2
Matières azotées g/kg	120,2	64,7	64,4
Calcium total g/kg	1,41	1,26	1,24
Phosphore total g/kg	1,82	1,52	1,15
Azote du sédiment p.100 de l'azote total	91,8	90,5	94,1
Ca mg/g protéines du sédiment	1,67	1,23	1,42
Eau d'hydratation g/g protéines du sédiment	1,34	1,64	1,41
Poids des pâtes obtenues en g/4,6 kg du lait nor.	423	858	942
Rendement en extrait sec	20,2	34	29
Indice de fermenté	25	36	11,3

3.4.4. - Comparaison des effets des différentes additions.

Pour les maturations biologiques (tableau 20), on peut constater que l'addition de calcium seule provoque une nette augmentation d'extrait sec par rapport au témoin ; l'addition de lactose au contraire n'intervient que très peu sur ce paramètre et l'addition de protéines du sérum provoque une diminution du taux de matière sèche.

La quantité de calcium fixé aux protéines sédimentées, est augmentée par l'addition de calcium et lactose ; au contraire l'ajout de protéines du sérum entraîne une diminution de ce rapport.

L'eau d'hydratation montre une diminution dans le cas de calcium et une augmentation pour les autres substances ajoutées.

Dans tous les cas le rendement en extrait sec augmente et l'indice de fermeté reste inchangé.

.../...

TABLAU 20 - Effet des diverses additions sur les caractéristiques des caillés.

1 - Maturation biologique.

	Calcium		Lactose		Protéines du sérum	
	Témoin	50 m M	Témoin	50 g	Témoin	80 g
Extrait sec g/kg	156,5	175,3	113,0	142,0	109,6	102,6
Calcium total g/kg	1,51	3,08	1,25	1,27	1,29	1,00
Azote du sédiment p.100 d. l'azote total	92,2	95,5	-	66	93,0	96
Calcium mg/g de protéines du sédiment	2,14	5,23	3,23	4,40	2,16	2,34
Taux d'hydratation g/g protéines du sédiment	1,32	1,22	1,31	1,90	1,37	1,42
Replément en extrait sec	46,1	57	40	52	40,9	61,5
Indice de fermenté	13	13	3	4	< 3	< 3

Pour les acidifications chimiques (tableau 20 bis), comme dans le cas des saturations biologiques, l'extrait sec et le taux d'azote sédimenté augmentent quand il y a addition de calcium.

L'augmentation de calcium fixé aux protéines sédimentées est très forte dans les cas d'addition de calcium et de lactose. Dans le cas d'addition de protéines du sérum on constate une diminution par rapport à l'essai témoin.

Le rendement en extrait sec augmente pour les additions de lactose et les protéines du sérum et diminue pour le calcium. La fermeté est augmentée seulement par addition de calcium.

.../...

TABLEAU 20 bis - Effet des diverses additions sur les caractéristiques des caillés

II - Acidification chimique:

	Calcium		Lactose		Protéines du sérum	
	Témoin	50 m M	Témoin	50 g	Témoin	80 g
Extrait sec g/kg	203,0	213,6	284,0	261,0	194,9	138,5
Calcium total g/kg	1,44	2,60	2,37	1,77	1,41	1,26
Azote du sédiment p.100 de l'azote total	92,0	97,0	91,7	51,2	91,3	90,5
Calcium mg/g de protéines du sédiment	2,7	7,30	1,30	7,73	1,57	1,23
Eau d'hydratation g/g protéines du sédiment	1,33	1,57	2,50	2,32	1,34	1,64
Extrait en extrait sec	20,0	15,7	17,9	35	20,2	34
Indice de fermenté	8	27	44,5	18,3	25	10,3

3.4.5. - Influence de l'acidification mixte sur la composition..
et la fermeté des pâtes.

Nous avons fait des essais d'acidification mixte, sans addition de calcium, de lactose, ni de protéines ; mais nous l'exposons dans cette partie (3.4.) car ils ont été exécutés à la même époque que les précédents et en suivant la même technique. Nous avons effectué une acidification biologique jusqu'à pH 5,2 par addition de 100 g de ferments lactiques par kg de lait écrémé concentré ; le pH est ensuite abaissé jusqu'à 4,8 par addition d'acide chlorhydrique.

Un extrait sec et un taux de matières azotées faible caractérise ce type d'acidification. Les pâtes renferment un taux de calcium fixé normal mais elles sont liquides (tableau 21).

Les poids des pâtes obtenues sont élevés de même que le rendement en extrait sec : l'indice de fermeté est très faible et les caillés sont liquides.

La texture des pâtes est très fine et une partie du caillé flotte sur le sérum, comme dans le cas des additions de protéines du sérum .

Les pâtes fabriquées à partir de lait écrémé concentré par acidification mixte présentent des points communs avec les maturations biologiques que nous venons d'examiner **et** fabriquées à partir de laits semblables. En particulier, elles ont un extrait sec et un taux de matières azotées faibles, une teneur en calcium et phosphore total faible, elles donnent un rendement élevé, tout en restant très fluides, et conduisent à des poids de sédiments peu élevés en azote, avec une quantité de calcium fixée du même ordre de grandeur.

et les propriétés des caillés

	Acidification mixte	
	Caillé de lait concentré	
	P ₁	P ₂
pH	4,85	4,94
Extrait sec g/kg	100,3	109,0
Matières azotées g/kg	62,5	52,5
Calcium total g/kg	1,26	1,18
Phosphore total g/kg	1,32	1,27
Azote du sédiment p.100 de l'azote total	80,6	84,9
Ca g/g protéines du sédiment	2,40	2,58
Eau d'hydratation g/g protéines du sédiment	1,37	1,65
Poids des pâtes obtenues en g/2,3 kg du lait nor.	1350	1270
Arandonement en extrait sec	62,1	60,0
Indice de fermenté	< 3	< 3

3.5. - ETUDE ELECTROPHORETIQUE DES LAITS ET DES CAILLES

Ce sont les électrophorèses en gel aridon qui nous ont donné les meilleures résolutions dans l'examen des laits et des caillés. Les examens ont porté sur la partie sédimentée par ultracentrifugation, constituée essentiellement de caséine et sur les surnageants renfermant les protéines solubles (albumines et globulines). Dans tous les cas, les dépôts sont réalisés de manière identique pour rendre les électrophorèses comparatives.

Dans la figure (10), nous présentons des diagrammes d'électrophorèses des sédiments du lait écrémé normal, du lait écrémé concentré non ensemencé, puis additionné des ferments lactiques et enfin maturé. Les deux bandes épaisses et sombres représentent les caséines α_s et β par ordre de mobilité décroissante. Les deux bandes de la caséine K apparaissent faiblement entre la ligne de départ et la caséine β .

On voit, qu'il existe des différences entre le lait normal non chauffé, d'une part, et le lait concentré ; maturé ou non, d'autre part. Dans ce dernier, on voit apparaître nettement les bandes des β - lactoglobulines A et β .

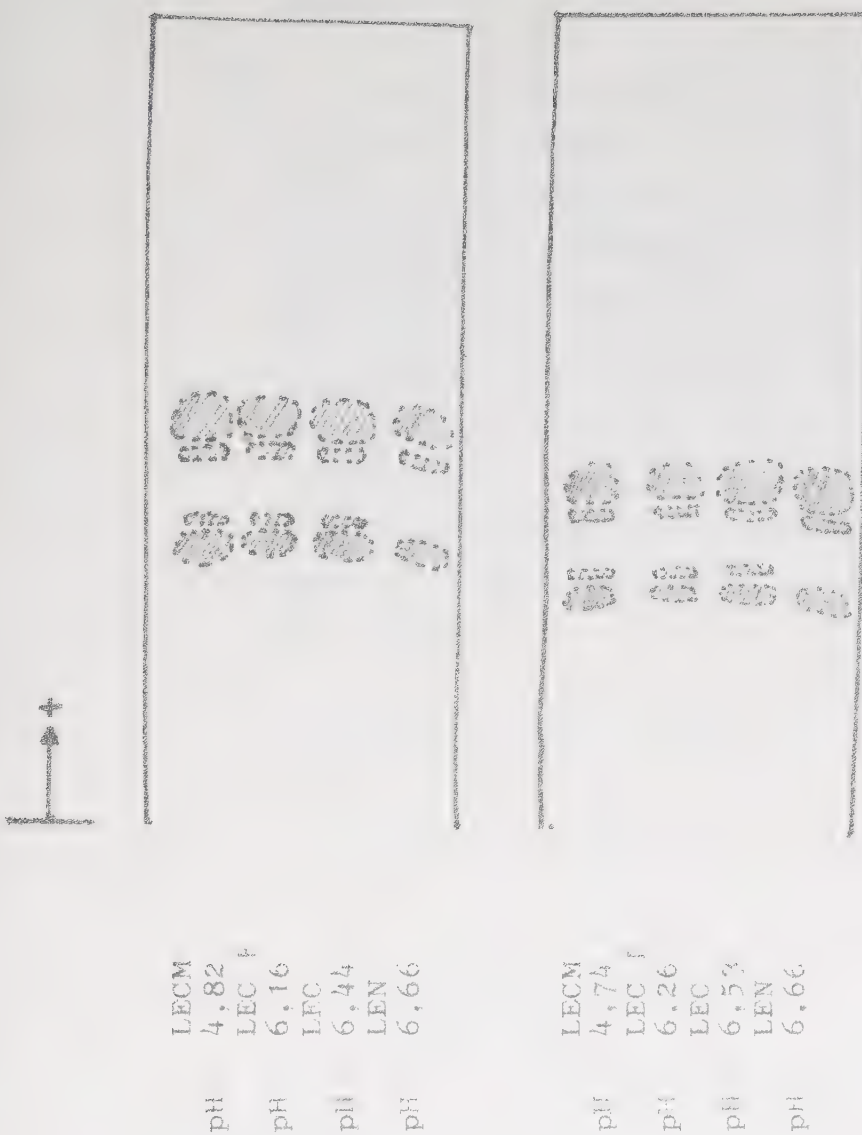


Fig. 10 - Diagramme d'électrophorèse (gel d'amidon, pH 8.6, 8 v cm) des sédiments du lait écrémé normal (LEN), du lait concentré (LEC), du lait concentréensemencé (LECF) et mûré (LECM) de deux expériences.

Dans la figure (11), nous présentons une comparaison entre les sédiments et les surnageants du lait écrémé normal, du lait écrémé concentré et du caillé (pâte fraîche) correspondant au lait normal.

Dans le sédiment du lait, nous retrouvons, dans l'ordre des mobilités décroissantes, les constituants α_s , β et K de la caséine plus des constituants lents (zone de la caséine γ) et on voit à nouveau dans le sédiment du lait concentré, les bandes de la β -lactoglobuline et aussi dans celui du lait normal qui ici a été chauffé. Dans les surnageants correspondant, nous trouvons dans le même ordre la α -lactalbumine, la B-lactoglobuline et la serumalbumine. Dans celui du lait concentré, on voit une bande supplémentaire au niveau de la caséine B du sédiment ; elle n'apparaît pas dans le surnageant de la pâte provenant d'un lait normal (PN). Dans cette dernière on observe des bandes migrant vers l'anode.

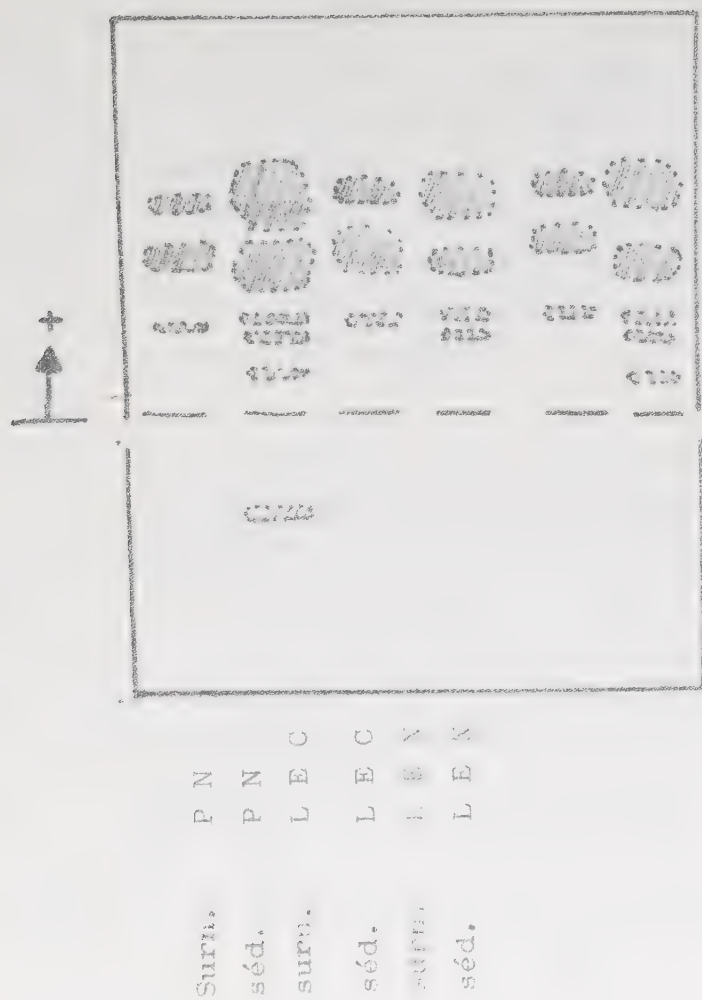


Fig. 11 - Diagramme d'électrophorèse (gel d'amylose, pH 8,6, 8 v/cm), des sédiments et des surnageants, du lait écrémé normal (LEN), du lait écrémé concentré (LEC), du caillé, du lait normal (PN).

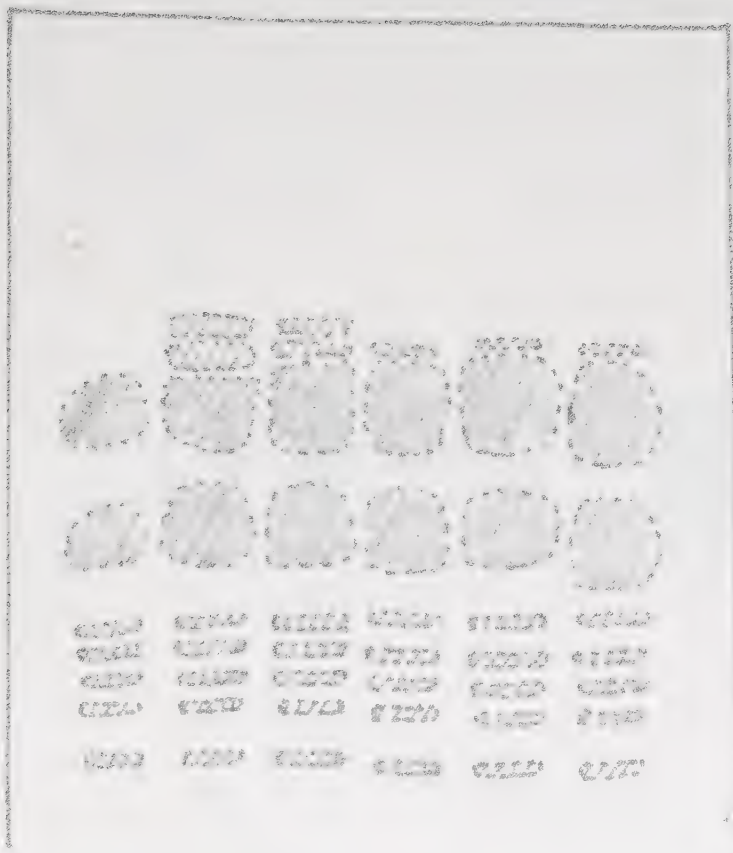
Dans la figure (12), nous présentons les sédiments des pâtes du lait normal, du lait concentré sans addition de calcium et les pâtes obtenues après addition de 25, 50, 75 et 100 m-moles de calcium par kg de lait concentré ; toutes sont obtenues par acidification chimique.

On constate dans les pâtes obtenues à partir du lait concentré, la présence de bandes fortement colorés en avant de la caséine α_s (et de la α -lactalbumine qui, dans ces conditions, migre comme de la caséine α_s) l'addition de calcium provoque une affaiblissement progressif de ces bandes. Dans la pâte de lait normal, on ne voit que deux bandes très faiblement colorés dans cette position.

On observe aussi, l'épaississement vers l'avant de la bande de la caséine B, là où l'on trouve la β - lactoglobuline dans les pâtes de lait concentré.

Dans les mêmes pâtes obtenues après maturation biologique (figure 13), les constituants plus rapides que α_s sont très faibles ; par contre, la bande en avant de la caséine B, au niveau de la β -lactoglobuline reste bien visible.

.../...



PN P0 P25 P50 P75 P100

Fig. 12 - Diagramme d'électrophorèse (gel d'amidon, pH 8,6, 3 v/cm) des sédiments des pâtes fraîches du lait normal (PN), lait concentré (P0) du lait concentré avec addition de 25-m-moles calcium (P_{25}), 50 m-moles de calcium (P_{50}), 75 m-moles de calcium (P_{75}) et 100 m-moles de calcium (P_{100}), obtenues par acidification chimique.

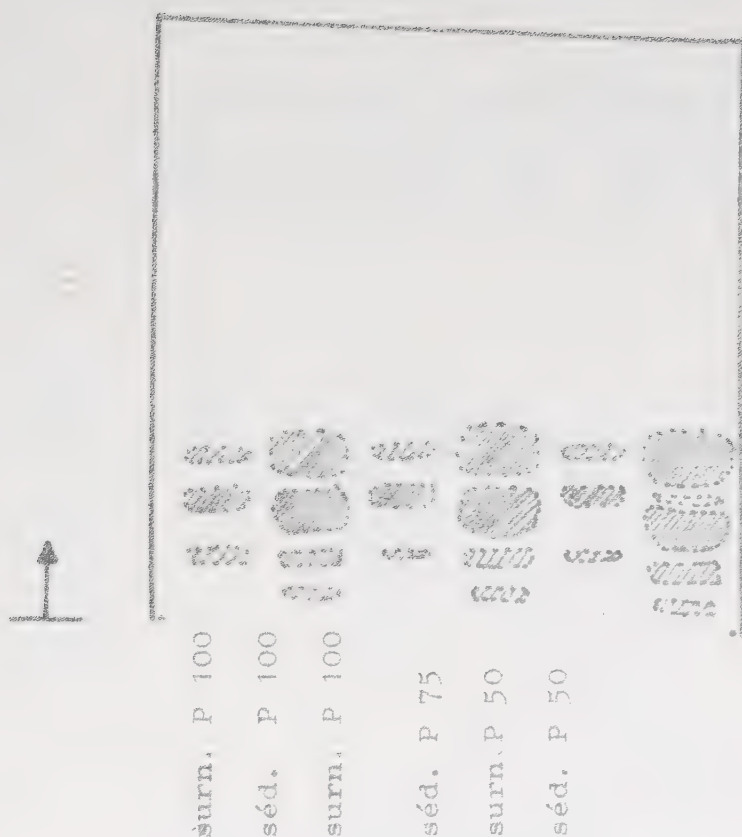


Fig. 13 - Diagramme d'électrophorèse (gel amidon, pH 8,6, 8 v/cm) des sédiments et surnageants des pâtes fraîches avec addition de 50 m-moles de calcium (P_{50}), 75 m-moles de calcium (P_{75}) et 100 m-moles de calcium (P_{100}) obtenues par acidification biologique.

Dans la figure (14), nous avons les électrophorèses correspondantes aux essais d'acidification chimique après addition de lactose. Comme dans le cas du calcium, on retrouve en avant de la bande α_s plusieurs bandes bien marquées.

Dans l'électrophorèse du surnageant de sédimentation: Po on retrouve au niveau de la β caséine une bande très nette rappelant celle que l'on a déjà signalée dans le surnageant du lait concentré.

Les résultats électrophorétiques correspondant aux additions de protéines du sérum et à l'acidification mixte ne montrent pas de différence avec les essais que nous venons d'examiner.

.../...

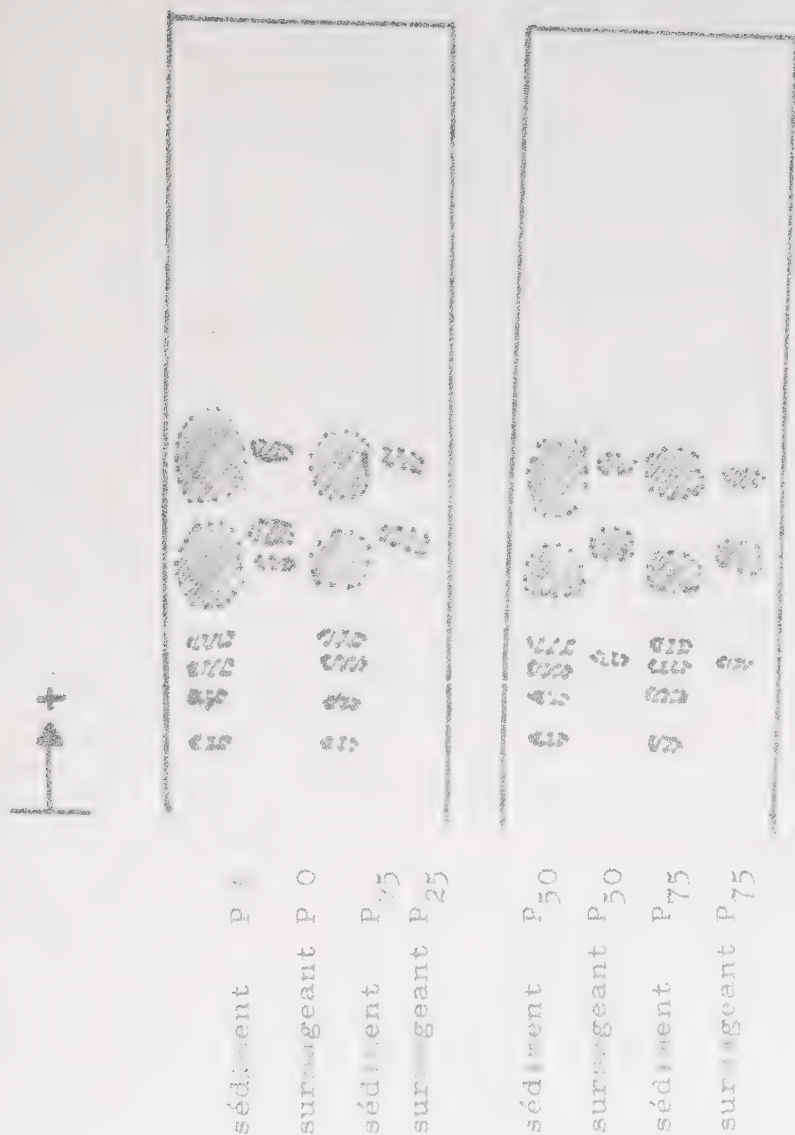


Fig. 14 - Diagramme d'électrophorèse (gel amidon, pH 8,6, 8 v/cm) des sédiments et surnageants des pâtes fraîches avec addition de 25 g de lactose/kg de lait concentré (P₂₅), 50 g de lactose (P₅₀), 75 g de lactose (P₇₅) et l'essai témoin sans addition de lactose (P0).

- 81 -

4 - DISCUSSION

.../...

4.1. - Dosage du phosphore.

L'utilisation de la méthode de l'étalon interne a le défaut d'exiger la préparation pour chaque solution à analyser, d'au moins deux ou trois solutions avec ajout. Cependant, lorsqu'on dispose de séries d'échantillons dont la teneur en phosphore est du même ordre de grandeur, il est possible d'utiliser l'un d'entre eux pour établir la droite d'étalonnage et d'effectuer seulement quelques vérifications par la méthode normale des ajouts (MARIEE et ARMSPACH, 1968).

Il est important de ne pas dépasser une quantité totale de phosphore de l'ordre de 500 µg pour 20 ml de méthylisobutylcétone. Dans le cas où l'on doit effectuer des dosages sur des laits concentrés par exemple, il faudra prendre une prise d'essai plus faible ou diluer l'échantillon convenablement. Au contraire, si la concentration en phosphore du produit analysé est trop faible, on pourra réduire le volume de la phase organique. Enfin, il faut prêter attention à la pureté de l'acide perchlorique ; nous avons utilisé le réactif "suprapur" de Merck.

4.2. - La distribution des minéraux dans le lait concentré.

Il a été montré qu'il existait un équilibre entre les états soluble et colloïdal des minéraux dans le lait et que, lorsque cet équilibre était déplacé par un facteur comme la concentration, le chauffage, l'acidification, le lait réagissait différemment aux facteurs extérieurs (THOMPSON et COLL 1969), (PYNE, 1962) (VUJICIC et DEMAN (1966).

Les résultats que nous avons obtenues confirment les travaux récents de ALAIS C. et TARODO de la FUENTE B, (1970) : La concentration du lait par évaporation provoque une légère baisse du pH et un déplacement du calcium et du magnésium de la phase soluble vers la phase insoluble. Toutefois, le passage du magnésium vers l'état insoluble est plus faible que celui du calcium.

.../...

L'analyse des données relatives aux différents états des minéraux (solubles colloïdal ou ionique) nous montre que les variations du calcium et du phosphore dans les normaux et concentrés sont comparables.

Les courbes de solubilisation obtenues pour les différents cations analysés montrent que l'acidification provoque dans les laits normaux et concentrés des phénomènes semblables.

Cependant, il faut remarquer que pour un pH donné, le lait concentré est toujours plus riche en minéraux fixés par les protéines que le lait normal correspondant. L'écart observé est relativement important pour le calcium et le phosphore puisqu'il atteint 10 à 15 %.

Cette persistance de la fixation de ces cations par les caséines pour de basses valeurs de pH peut avoir un rôle important dans les processus de coagulation acide des laits concentrés. Elle conduit en effet à des caillés acides enrichis en calcium (ALAIS et TARODO de la FUENTE 1970).

4.3. - Les différents types de maturation.

Les résultats obtenus à partir d'une maturation lactique (pâtes fraîches classiques) ou d'une acidification chimique permettent d'établir une comparaison entre les deux types de caillé, qui est schématiquement présentée dans le tableau 22.

Les extraits secs des fabrications réalisées par acidification chimique sont plus élevés que ceux des caillés classiques. Ils pourraient être abaissés par le choix de paramètres technologiques différents, mais dans ce cas, la fermeté des caillés correspondants serait certainement diminuée.

TABLEAU 22 - Caractéristiques des caillés lactiques et chimiques.

	:Acidification bio- :logique (ferments : lactiques)	:Acidification chimi- :que (acide chlorhy- :drique).
Extrait sec moyen g/kg	: 128	: 176
Lactose, p.100 d'E.S.	: 31,2	: 22,8
Calcium, mg par g de protéines sédimentées	: 2,5	: 3,2
Eau d'hydratation, g par g de protéines sédimentées	: 1,5	: 1,3
Rendement en extrait sec	: 53,5	: 42,2
Rapport des extraits secs	: 0,6 à 2,76	: 0,34 à 0,47
Fermeté moyenne	: Faible :(indice inférieur : à 20)	: Elevée :(Indice supérieur : à 20)

Le pourcentage de lactose dans l'extrait sec est nettement abaissé par l'acidification directe alors que le taux de calcium trouvé dans le sédiment est au contraire augmenté. L'acidification rapide réalisée à basse température permet d'obtenir une minéralisation importante dans le caillé, comme l'ont montré FOX et ERNSTROM (1969) : elle concourt, avec la diminution de la teneur en lactose, à une plus grande fermeté du produit. La teneur en eau d'hydratation par gramme de protéines, plus faible que dans les pâtes classiques, intervient sans doute dans le même sens en permettant une meilleure cohésion des matières solides.

Le paramètre le plus significatif, en ce qui concerne la fermeté du caillé, est le "rapport des extraits secs". Si ce rapport est supérieur à 0,2 dans les conditions de nos essais, les caillés obtenus sont liquides.

L'acidification chimique directe favorise l'obtention d'un caillé mieux égoutté possédant une plus grande fermeté. Par contre, le poids de caillé obtenu, et surtout la quantité totale de matière sèche recueillie, sont plus faibles. L'acidification chimique conduit donc à des rendements inférieurs.

L'augmentation du temps de conservation du lait entre l'acidification et la coagulation diminue la fermeté des caillés comme l'ont montré FOX et ERSNTROM (1969). L'hypothèse de ces auteurs, selon laquelle le calcium serait refixé à la caséine après solubilisation par acidification et coagulation, semble pouvoir être retenue. L'analyse a montré en effet, qu'un lait maturé de pH 4,7 - 4,8 ne contient plus de calcium sous forme insoluble.

4.4. - Influence des constituants solubles.

Les effets favorables de l'enrichissement en poudre de lait du lait écrémé sur le rendement fromager et sur la texture du fromage sont bien connus dans l'industrie américaine (Emmons and Tuckey, 1967). De notre côté, nous avons cherché plus particulièrement à connaître les effets des constituants solubles du lait écrémé : calcium, lactose, protéines du sérum.

L'analyse des différents essais réalisés montre qu'en général, les pâtes obtenues par maturation lactique ou par acidification chimique, présentent une fermeté d'autant plus élevée qu'elles sont riches en calcium fixé aux protéines. Cependant, le calcium n'est certainement pas le seul élément qui intervient sur cette propriété. Les tableaux (17 et 17 bis) montrent l'action importante de l'extrait sec sur la fermeté et plus particulièrement l'effet du taux de protéines sédimentables, c'est-à-dire de la caséine.

Les additions de calcium sont favorables à la sédimentation des matières azotées par ultracentrifugation. Il en est de même des additions de protéines du sérum. Le calcium agit indirectement en provoquant une agglomération des particules de caséine et une augmentation de densité. L'action similaire des protéines du sérum sur la fermeté est plus difficile à expliquer. Nous avons déjà souligné les basses valeurs du pH du caillé dans ces expériences. La cause en est probablement technologique ; il est difficile de répéter l'expérimentation dans des conditions identiques.

Quelque soient les substances ajoutées, les rendements obtenus (poids de matière sèche du caillé/poids de matière sèche du lait de départ) sont toujours plus élevés avec la maturation biologique qu'en acidification chimique.

D'autre part les pâtes provenant de la fabrication classique ont en général une structure beaucoup plus fine, rarement granuleuse ou en tout cas, moins granuleuse que dans le cas des fabrications à l'acide chlorhydrique. Il semble que l'acidification brutale à l'acide chlorhydrique provoque une individualisation des grains de caséine qui donnent un caillé à faible cohésion et à texture sableuse.

Les additions de lactose provoquent au contraire une diminution de la quantité de protéines sédimentées ce qui conduit dans le cas de la maturation biologique à des pâtes liquides dont l'extrait sec est très faible. En outre, le sédiment s'appauvrit en protéines. L'addition de lactose diminue la sédimentation des protéines par une augmentation de la viscosité du milieu et peut être de l'hydratation des protéines.

Dans le cas de l'acidification chimique, la richesse en calcium fixé et l'extrait sec très élevé des pâtes compensent les effets d'un taux de matières azotées sédimentées faible. Il est d'ailleurs intéressant de noter que l'addition de lactose provoque une accroissement du taux de calcium fixé aux protéines, surtout quand il s'agit d'acidification chimique.

Dans les fabrications réalisées à partir d'une acidification directe, tout se passe comme si le calcium qui reste fixé aux protéines était en réalité emprisonné dans les agglomérats de micelles par une coagulation presque instantanée sans jouer aucun rôle de liaison entre eux.

En résumé l'addition du calcium est favorable à un accroissement de fermeté quelque soit le type d'acidification choisi. Par contre les additions de lactose et de protéines du sérum n'accroissent la fermeté que dans le cas des acidifications chimiques.

La comparaison des pâtes obtenues par acidification mixte avec les pâtes provenant d'une acidification chimique ou d'une maturation biologique nous permet, compte tenu du but recherche qui est d'obtenir une pâte ferme (IF₄ 20), à l'extrait sec peu élevé (15 %), à texture fine, non sableuse, et avec un rendement élevé, de définir un schéma de fabrication.

En effet, les pâtes fabriqués à partir de lait écrémé concentré par acidification mixte ont un extrait sec trop faible, un taux de matières azotées trop peu élevé et sont trop fluides. Il faut donc se rapprocher des caractères des coagulations à l'acide chlorhydrique pour ce qui est de l'extrait sec et du taux de matières azotées. Il est probable que si l'on arrête l'acidification biologique à un pH plus élevé que le pH choisi de 5,2 par exemple 5,6, et si l'on termine l'acidification avec l'acide chlorhydrique, on pourra arriver à un tel résultat.

4.5. - Etudes électrophorétiques.

DELLA MONICA et COLL, ont mis en évidence que la β -lactoglobuline forme un complexe avec la caséine - K au cours du chauffage. La formation de ce complexe apparaît nettement dans nos examens. La figure (10) montre dans le sédiment du lait concentré, les deux bandes caractéristiques de la β - lactoglobuline qui se séparent de la caséine K dans le milieu réducteur (présence de mercaptoéthanol provoquant la rupture des ponts disulfures). La liaison de la caséine - K et de la β - lactoglobuline est favorisée à la fois par les traitements chimiques subis par le lait et par leur plus forte concentration en calcium, dans le cas des caillés acides obtenus par le procédé Hutin-Stonne. L'utilisation du lait concentré (figure 12) favorise la formation et la précipitation dans la pâte de ce complexe. On peut donc espérer obtenir des meilleures rendements par ce procédé.

.../...

La présence de constituants électrophorétiques rapides dans le crillé de lait concentré, (en avant de la caséine α_s) est actuellement inexplicable, de même que la présence d'un constituant nouveau dans le surnageant correspondant (au niveau de la caséine β).

- 89 -

5 - RESUME

Ce présent travail contient les parties suivantes :

1. Mise au point du dosage indirect du phosphore dans le lait par spectrophotométrie d'absorption atomique.
2. Effets de la concentration et des variations du pH sur la distribution des minéraux.
3. Influence du procédé de maturation sur les propriétés des caillés acides.
4. Effets de l'enrichissement en diverses substances solubles du lait concentré sur la composition et les propriétés des caillés acides.
5. Etudes électrophorétiques des laits et des caillés.

Il est possible de doser le phosphore rapidement dans les milieux biologiques. La composition et les propriétés des caillés lactiques obtenus par coagulation continue du lait concentré dépendent beaucoup du procédé d'acidification utilisé. Les caillés obtenus par acidification directe ont un extrait sec, un taux de calcium fixé et une fermeté supérieure à ceux d'un caillé lactique normal. Ils contiennent par contre moins de lactose et ont un taux d'hydratation plus faible. Le rendement en pâte fraîche est sensiblement diminué avec l'acidification directe. Pour les deux types de caillés, l'allongement du temps de conservation diminue l'extrait sec et la fermeté.

Il n'y a pas de relation nette entre la fermeté du caillé et la teneur en eau d'hydratation des protéines. Par contre, il existe une corrélation entre la fermeté et la proportion d'extrait sec de lactosérum restant dans le caillé.

Les additions de calcium et de protéines du sérum sont favorables à la sédimentation des matières azotées par ultracentrifugation. Par contre, les additions de lactose provoquent une diminution de la sédimentation des protéines par une augmentation de la viscosité des pâtes et peut être de leur hydratation.

L'addition du calcium est favorable à un accroissement de fermeté quelque soit le type d'acidification choisi. Par contre, les additions de lactose et de protéines du sérum n'accroissent la fermeté que dans le cas des acidifications chimiques.

Les pâtes fabriquées à partir du lait écrémé concentré par acidification mixte ont un extrait sec trop faible, un taux de matières azotées trop peu élevé et sont trop fluides.

Les examens électrophorétiques montrent que l'utilisation du lait concentré par le procédé Hutin-Stenne, favorise la formation et la précipitation dans la pâte du complexe K - caséine - β -lactoglobuline.

.../...

6 - BIBLIOGRAPHIE

ALAIS C., 1962, Thèse science Paris.

ALAIS C., 1965, Influence de divers traitements sur l'aptitude du lait à la coagulation. Industrie Laitière n° 218 et 219.

ALAIS C., STENNE P., 1965 - Etude de la coagulation du lait concentré. Le Lait 45, 129.

ALAIS C., TARODO de la FUENTE B., 1970 - Effets of milk concentration on the salts equilibria and on the composition and properties of lactic curds. Milchwissenschaft, 25, 514.

ARDEBILI G.M., CAMUS A., JOUXIER X., 1964 - Etudes des rendements obtenus par utilisation du lait concentré dans la fabrication de pâtes molles. Industrie Laitière, n° 214, 375.

BAMMAN E., NOVOTNY E., ROHR L., 1948 - Zur colorimetrischer Bestimmung der Phosphorsaure (Einfluss der Säurekonzentration auf die Reduktion der Phosphormolybdänsäure durch Aminonaphtholsulfonsäure). Chem. Ber., 81, 438.

BERRIDGE N.J., 1942 - Second phase of rennet coagulation. Nature, 194-195.

BREVET S.E.F.F.A.C., 1964 - Paris.

BRODIE K.G., 1969 - A molecular emission method for determining anions containing phosphorus and sulfur. Resonances lines, 1, N° 3.

DELLA MONICA E.S., CUSTER J.H., and ZITTLE C.A., 1958 - Effect of calcium chloride and heat on solutions of mixtures of β - lactoglobulin and casein. J. Dairy Sci., 41, 465.

EMMONS D.B., and TUCKEY S.L., 1967 - Cottage Cheese and other cultured milk products. Pfizer Cheese Monographs, vol. III, (New York).

ERNSTROM C.A., 1965 - Continuous cottage cheese manufacture without culture. Milk Ind., 56, 36.

FOX C.W. and ERNSTROM C.A., 1969 - The role of calcium in the low-temperature acidification of skim milk and the formation of direct acid curd. J. Dairy Sci., 52, 885.

HESLOP B.R., and RAMSEY A.C., 1969 - The solvent extraction of vanadomolybdophosphoric acid as the basis of a subsioichiometric method for the determination of phosphorus. Anal. Chim. Acta 47, 305.

HOSTETTLER H. et IMHOF K., 1952 - Etude de la caséine native au microscope électronique. Ann. Agric. Suisse, 66, 307.

LINDEN G., 1971 - Applications de la spectrophotométrie d'absorption atomique dans les laboratoires d'industrie alimentaire. Ind. Alim. Agric. 88, 793

LINDEN G., TÜRK S., TARODO de la FUENTE B., 1971 - Dosage du phosphore dans les milieux biologiques par spectrophotométrie d'absorption atomique. Chimie analytique 53, N° 4, 244-246.

MABBIT L.A. and CHEESEMAN G.C. , 1967 - The effect of concentrating milk on the fat retention property of the cheese curd. J. Dairy Res. 34, 37.

MARIEE M. et ARMSPACH G., COLL C.N.R.S., 1968- Nancy- Dosage des éléments à l'état de traces dans les roches et les autres substances minérales naturelles.

MAUBOIS J.L., MOCQUOT G. et BLANC-PATIN E., 1965 - L'influence de la concentration du lait sur le rendement en fromage. Industrie Laitière, N° 222, 309.

MOCQUOT G., ALAIS C., CHEVALIER R., 1954 - Défauts de coagulation du lait par la présure. Ann. Technol. Agric. (I.N.R.A.) 3. 1.

- PINTA M., et COLL, 1971 - Spectrophotométrie d'absorption atomique. Masson. Paris.
- PYNE G.T., 1962 - Some aspects of the physical chemistry of the salts of milk. J. Dairy Res. 29. 101.
- ROUSSELET F., 1966, Spectrophotométrie par absorption atomique appliquée à la biologie. Ed. S.E.D.E.S. - Paris.
- SAINCLIVIER M., 1959 - Etude des conditions de l'emploi de la méthode Smeets pour le dosage du calcium ionisé dans un - ultrafiltrat de lait. Annales de Technologie Agricole 155-170.
- SEEKLES L. et SMEETS W.T.G.M., 1954 - L'instabilité du lait par suite d'une augmentation de la teneur en ions de calcium. Le Lait, 34, 339-340, 610.
- SCHALINATUS E. und BEHNKE U., 1969 - Untersuchungen zur Wirkung von Labpräparaten verschiedener Herkunft. 2. Festigkeit und Schrumpfung des Bruches. Milchwissenschaft, 22, 601.
- SCHMIDT D.G., 1965 - De vorm van casein deeltjes in melk en melkprodukten Nizo-nieuws. 11ème série, 10.
- SCHWARZENBACH G. et GYSLING H., 1949 - Helv. Chim. Acta. 32, 1317.
- TARODO de la FUENTE B., TÜRK S., ALAIS C., HUTIN G. et BRUNEAU J.C., 1971 - Influence du procédé de maturation sur les propriétés et la composition des caillés lactiques obtenus par coagulation du lait concentré. Le Lait, N° 509-510, 623-637.
- TESSIER H. and DYSON ROSE, 1958 - Calcium ion concentration in milk. J. Dairy Sci., 41, 351.
- THOMPSON M.P., BOSWELL R.T. and MARTIN U. Casein-Pellet solvation and Heat stability of individual cow's milk. J. Dairy Sci. 52, 796.

TOURNEUR C., DO NGOC CU, LE NOIR J. et VEISSEYRE R., 1967, -
L'influence de l'emploi du lait concentré sur certaines
caractéristiques des fabrications fromagères. Le Lait
47, 383-392 et 503-511.

TSCHIERET F.X., 1971 - L'apport des techniques nouvelles et des
procédés en continu à la fromagerie de demain. La Technique
Laitière, n° 719, 67.

VUJICIC J., DEMAN J.M., 1966 - Soluble colloidal equilibria of
constituents of concentrated milks. Milchwissenschaft, 21,346.

WAKE R.G., BALDWIN R.L., 1961 - Biochim. Biophys. Acta, 47,225.

WAUGH D.F. and VON WIPPEL P. H. 1956, K casein and stabilization
of casein micelles. J. Amer. Chem. Soc., 78, 4576.

ZAUGG W.S. et KNOX R.J., 1966 - Indirect determination of inorganic
phosphate by atomic absorption spectrophotometric determination
of molybdenum. J. Anal. Chem., 78, 1759.

NOM DE L'ETUDIANT : TURK Cefik

Nature de la thèse : DOCTEUR ENCHIMIE

Vu, Approuvé

et permis d'imprimer

NANCY, le 26 Juin 1892

Le Président du Conseil de l'Université de NANCY I



J.R. HELLUY

